

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表平10-507624

(43) 公表日 平成10年(1998) 7月28日

(51) Int.Cl.⁶

識別記号

F I

C 1 2 N 15/09
A 0 1 K 67/027
C 0 7 K 19/00
C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 15/00 A
A 0 1 K 67/027
C 0 7 K 19/00
C 1 2 N 5/00 B

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全147頁)

(21) 出願番号 特願平8-508238
(86) (22) 出願日 平成7年(1995) 8月18日
(85) 翻訳文提出日 平成9年(1997) 2月18日
(86) 国際出願番号 P C T / U S 9 5 / 1 0 5 9 1
(87) 国際公開番号 W O 9 6 / 0 6 1 1 1
(87) 国際公開日 平成8年(1996) 2月29日
(31) 優先権主張番号 0 8 / 2 9 2 , 5 9 5
(32) 優先日 1994年8月18日
(33) 優先権主張国 米国 (U S)
(31) 優先権主張番号 0 8 / 2 9 2 , 5 9 6
(32) 優先日 1994年8月18日
(33) 優先権主張国 米国 (U S)

(71) 出願人 アリアド・ジーン・セラピューティクス・
インコーポレーテッド
アメリカ合衆国マサチューセッツ州02139,
ケンブリッジ, ランズダウン・ストリート
26
(72) 発明者 ブルッジ, ジョーン・エス
アメリカ合衆国マサチューセッツ州01742,
コンコード, サラー・ウエイ 50
(72) 発明者 クラブトゥリー, ジェラルド・アール
アメリカ合衆国カリフォルニア州94062,
ウッドサイド, ダーラム・ロード 7
(74) 代理人 弁理士 社本 一夫 (外4名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 遺伝子発現、遺伝子産物機能および工学処理された宿主細胞の調節可能な除去

(57) 【要約】

遺伝子工学処理された細胞またはそれらを含む生物体において、標的遺伝子の発現またはその遺伝子産物の生物学的効果を調節的に妨害するための材料および方法が開示される。本発明の特色は、標的遺伝子の調節可能な阻止、標的遺伝子産物の機能または効果の妨害、または標的遺伝子の調節可能な除去のための宿主細胞の組換え修飾およびインビトロおよびインビボでのそれらの使用により例示される。

■

■

■

■

■

表 1

疾患	遺伝子／遺伝子産物
パーキンソン病	チロシンヒドロキシラーゼ
神経変性性疾患	増殖因子またはミエリン化タンパク質
骨粗鬆症	骨形態発生因子
貧血	エリスロポエチン
血小板減少症	トロンボポエチン
免疫不全症	抗原受容体、免疫細胞シグナリングタンパク質
癌	サプレッサー変異を運ぶ動物の腫瘍 サプレッサー遺伝子
嚢胞性線維症	C F T R
糖尿病	インシュリン、インシュリン受容体
下垂体矮小発育症	増殖因子
気腫	アルファーアンチトリプシン
家族性過コレステリン血症	L D L 受容体
重症性地中海貧血および 鎌形赤血球貧血	ベーターグロビン
A型血友病	因子Ⅷ
B型血友病	因子Ⅸ
ゴーシェー病	グルコセレブロシダーゼ
グリコーゲン貯蔵疾患	いくつかの型／遺伝子
フェニルケトン尿症	フェニルアラニンヒドロキシラーゼ
重度合併免疫不全疾患	A D A、プリンヌクレオシドホスホリラーゼ p 7 0 ^{ZAP}
デュシェン筋ジストロフィー	ジストロフィン
レッシューナイハン症候群	ヒポキサンチンホスホリボシルトランスフェラーゼ
ルーゲーリッヒ病	スーパーオキシドジスムターゼ
グランツマン血小板減少症	G P Ⅱ b-Ⅲ a フィブリノーゲン受容体
テーサックス病	ヘキソサミニダーゼ

28

29

30

2

2

—

2

2

—

—

2

2

2

—

2

17

18

19

2

2

2

2 2

2

2 2

1

2

3

4

5

6

11

1

2

3

4

1

2

3

4

11

12

13

14

1. 2.



1

2



■

.

■

11

1

2

連

ノ

ノ

界

10/10

ノ

ノ

ノ

ノ

ノ

ノ

ノ

ノ

1

1

1

~

■

~



表 2

リガンド	DNA要素	結合因子	遺伝子	文献
インシュリン	cAMP	LRFI	jun-B	Mol. Cell Biol. (1992), 12, 4654
およびその他	応答性 要素(crc)		多数の 遺伝子	PNAS, 83, 3439
PDGF, FGF, TGF およびその他	SRE	SRF/SR EBP	c-fos	Mol. Cell Biol. (1992), 12, 4769
EGF	VL30 RSRF		RVL-3 ウイルス c-jun	Mol. Cell. Biol. (1992), 12, 2793 同上 (1992); 12, 4472
IFN- α	ISRE	ISGF-3		Gene Dev. (1989) 3, 1362
IFN- γ	GAS	GAF	GBP	Mol. Cell. Biol. (1991) 11, 182
PMAおよび TCR		AP-1	多数の 遺伝子	Cell (1987) 49, 729-739
TNF		NF κ B	多数の 遺伝子	Cell (1990) 62, 1019-1029
抗原	ARRE-1	OAP/Oc t- 1	多数の 遺伝子	Mol. Cell. Biol. (1988) 8, 1715
抗原	ARRE-2	NFAT	IL-2 エンハンサー	Science (1988) 241, 202

✓

✓

✓

✓

✓



組織	遺伝子	文献
レンズ	γ 2-クリスタリン	Breitman, M. L. , Clapoff, S. , Rossant, J. , Tsui, L. C. , Golde, L. M. , Maxwell, I. H. , Bernstein, A. , Genetic Ablation:targeted expression of a toxin gene causes microphthalmia in transgenic mice. Science 238 (1987) 1563-1565.
	α A-クリスタリン	Landel, C. P. , Zhao, J. , Bok, D. , Evans, G. A. , Lens-specific expression of a recombinant ricin induces developmental defects in the eyes of

transgenic mice, *Genes Dev.* 2(1988), 1168-1178.

Kaur, S., Key, B., Stock, J., McNeish, J. D., Akesson, R.,
Potter, S. S., Targeted ablation of alpha-
crystallin-synthesizing cells produces lens-
deficient eyes in transgenic mice,
Development 105 (1989) 613-619.

下垂体	成長	Behringer, R. R., Mathews, L. S., Palmiter, R. D.,
ソマトロピン	ホルモン	Brinster, R. L., Dwarf mice produced by genetic
細胞		ablation of growth hormone-expressing cells,
		<i>Genes Dev.</i> 2 (1988) 453-461.

膵臓	インシュリン	Orniz, D. M., Palmiter, R. D., Hammer, R. E., Brinster,
	エラスターゼ	R. L., Swift, G. H., MacDonald, R. J., Specific
	アシナー細胞	expression of an elastase-human growth fusion
	特異的	in pancreatic acinar cells of transgenic mice,
		<i>Nature</i> 311 (1985) 600-603.

Palmiter, R. D., Behringer, R. R., Quaife, C. J.,
Maxwell, F., Maxwell, I. H., Brinster, R. L., Cell
lineage ablation in transgenic mice by cell-
specific expression of a toxin gene,
Cell 50 (1987) 435-443.

T 細胞	lck	Chaffin, K. E., Beals, C. R., Wilkie, T. M., Forbush, K.
	プロモーター	A., Simon, M. I., Perlmutter, R. M., <i>EMBO Journal</i>

B 細胞	イムノグロブリン カッパー鎖	Borelli, E., Heyman, R., Hsi, M., Evans, R. M., Targeting of an inducible toxic phenotype in animal cells, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85 (1988) 7572-7576.
		Heyman, R. A., Borelli, E., Lesley, J., Anderson, D., Richmond, D. D., Baird, S. M., Hyman, R., Evans, R. M. Thymidine kinase obliteration: creation of transgenic mice with controlled immuno- deficiencies, Proc. Natl. Acad. Sci USA 86 (1989) 2698-2702.
シュワン細胞	P0 プロモーター	Messing, A., Behringer, R. R., Hammang, J. P. Palmiter, RD, Brinster, RL, Lemke, G., P0 promoter directs expression of reporter and toxin genes to Schwann cells of transgenic mice, Neuron 8 (1992) 507-520.
	ミエリン塩基性 タンパク質	Miskimins, R, Knapp, L., Dewey, M. J., Zhang, X. Cell and tissue-specific expression of a hetero- logous gene under control of the myelin basic protein gene promoter in transgenic mice, Brain. Res. Dev. 65 (1992) 217-21.
精子細胞	プロタミン	Breitman, M. L., Rombola, H., Maxwell, I. H., Klintworth, G. K, Bernstein, A., Genetic ablation in transgenic mice with attenuated diphtheria

toxin A gene, Mol. Cell. Biol. 10(1990)474-479.

肺	肺表面活性 遺伝子	Ornitz, D. M., Palmiter, RD., Hammer, R. E., Brinster, R. L., Swift, G. H., MacDonald, R. J., Specific expression of elastase-human growth fusion in pancreatic acinar cells of transgenic mice, Nature 131 (1985) 600-603.
脂肪細胞	P2	Ross, S. R, Braves, RA, Spiegelman, B. M., Targeted expression of a toxin gene to adipose tissue: transgenic mice resistant to obesity, Genes and Dev. 7 (1993) 1318-24.
筋肉	ミオシン 軽鎖	Lee, K. J., Ross, R. S., Rockman, HA, Harris, AN, O'Brien, TX, van-Bilsen, M., Shubeita, HE, Kandolf, R., Brem, G., Prices et al., J. Biol. Chem. 267 (1992) 15875-85.
	アルファアクチン	Muscat, G. E., Perry, S., Prentice, H. Kedes, L. The human skeletal alpha-actin gene is regulated by muscle-specific enhancer that binds three nuclear factors, Gene Expression 2(1992)111-26.
ニューロン	ニューロフィラメント タンパク質	Reeben, M. Halmekyto, M. Alhonen, L. Sinervirta, R. Saarna, M. Janne, J., Tissue-specific expression of rat light neurofilament promoter-driven reporter gene in transgenic mice, BBRC 192 (1993) 465-70.

肝臓

チロシン アミノ

トランスフェラーゼ、

アルブミン、

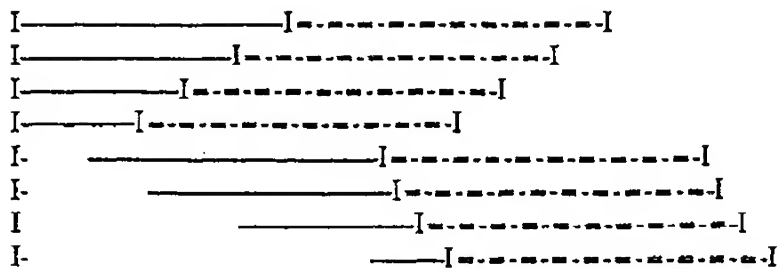
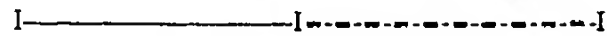
アポリポrotein

5' フランキング配列

コード配列



5' フランキング配列 レポーター遺伝子



2

3

4

5

ノ

ノ

ノ

ノ

ノ

ノ

ノ

ノ

■

■

■

■

1

1

1

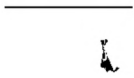
1

1

1

1





1

2

3

4

5

6

7

2

11

1

ノ

ノ

ノ

生

1

2

3

4

5

6

7

8

2

2

2 2

2 2

1

2

3

4

5

6

7

8

9

6

7

8

9

10

11

12

13

14

2

3

4

5

男 女

女

女

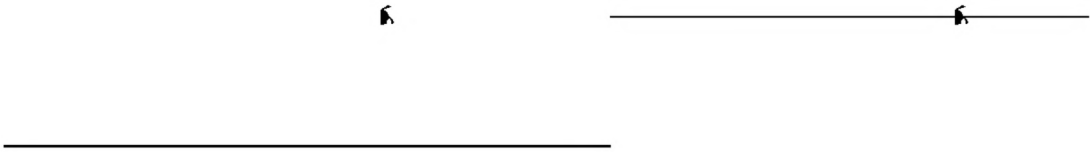
1

2

3

■

■



6

7

8

9

10

ノ

ノ

24

6 6

_____ 6

2

2

1

2

遑

遑

遑

遑

遑



迎



1

2

3

4

5

6

7



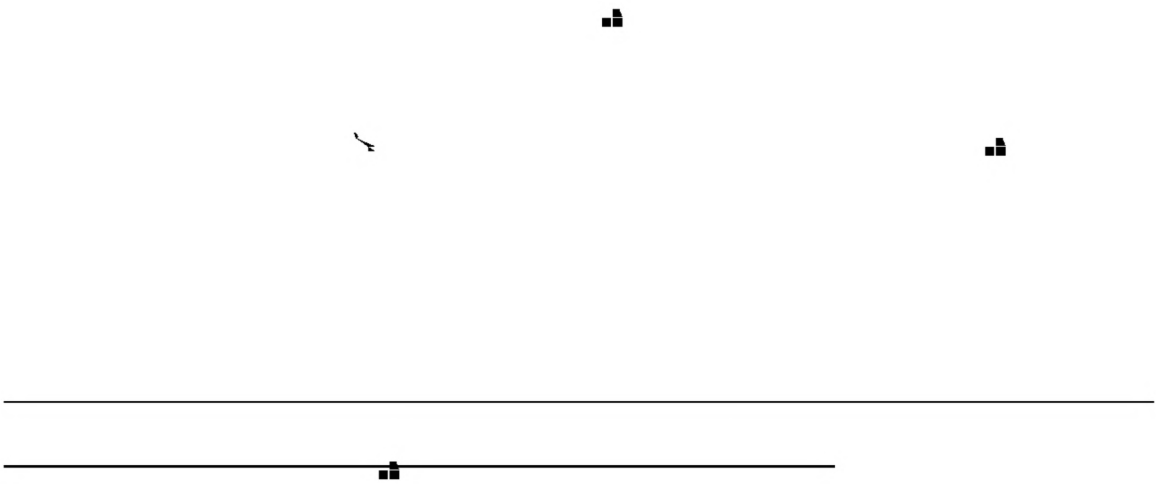
6

“

“

18





1

2

3

4

5

6

1

2

3

4

5

6

■

—

—

⌘ ↵

⌘ ↵

1

2

3

↙

↘

↖

↗

↘

18

19

20

21

22

23

24

27

28

29

30

31

32

SacII |----Ga14(1-147)---->> .
 M K L L S S I
 5' CGACACCGCGGCCACCATGAAGCTACTGTCTTCTATCG

 Kozak

<<----Ga14(1-147----)|
 R Q L T V S
 5' GACAGTTGACTGTATCGGTCGACTGTCTG
 3' CTGTCAACTGACATAGCCAGCTGACAGC

 SalI

SacII |--HNF1(1-281)-->>

_____ M V S K L S

5' CGACACCGCGGCCACCATGGTTTCTAAGCTGAGC

Kozak

<<----HNF1(1-282)----|

A F R H K L

5' CCTTCCGGCACAAGTTGGTCGACTGTCG

3' GGAAGGCCGTGTTCAACCAGCTGACAGC

SalI

Kozak

_____ M L E

5' GGCCACCATGC

3' CGCCGGTGGTACGAGCT

_____ _____

SacII XhoI

突出部分 突出部分

T (ACN)

126 132

L D F K K K R K V L E

5' TCGACCCTAAGAAGAAGAGAAAGGTAC

3' GGGATTCTTCTTCTTTCCATGAGCT

_____ _____

SalI XhoI

1

SalI |--VP16(413-490)--->>
_____ A P P T D V
5' CGACAGTCGACGCCCCCGACCGATGTC

<<-- VP16(413-490)-----|
D E Y G G
5' GACGAGTACGGTGGGCTCGAGTGTCG
3' CTGCTCATGCCACCGAGCTCACAGC

XhoI

#37 38mer/0.2um/OFF 5' CGACACCGCGGCCACCATGAAGCTACTGTCTTCTATCG
#38 28mer/0.2um/OFF 5' CGACAGTCGACCGATACAGTCAACTGTC
#39
34mer/0.2um/OFF 5' CGACACCGCGGCCACCATGGTTTCTAAGCTGAGC
#40 28mer/0.2um/OFF 5' CGACAGTCGACCAACTTGTGCCGGAAGG
#43 29mer/0.2um/OFF 5' CGACAGTCGACGCCCCCGACCGATGTC
#44 26mer/0.2um/OFF 5' CGACACTCGAGCCCACCGTACTCGTC
#45 26mer/0.2um/OFF 5' GGCCACCATGC
#46 18mer/0.2um/OFF 5' TCGAGCATGGTGGCCGC
#47 27mer/0.2um/OFF 5' TCGACCCTAAGA-(C/A)-GAAGAGAAAGGTAC
#48 27mer/0.2um/OFF 5' TCGAGTACCTTTCTCTTC-(G/T)-TCTTAGGG

■

■

■

■

■

■

■

■

ノ

ノ

迎

ノ

ノ

■

18

18

⚡

7

⚡

⚡

⚡

⚡

⚡

⚡

⚡

⚡

甲



乙

丙

丁

戊

甲

甲

甲

甲

甲

1

1

1

1

點

點

點

點

點

點

點



■

■

■

⚡

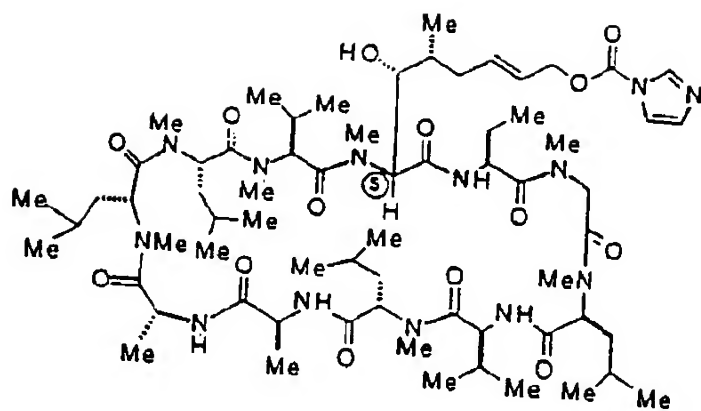
⚡

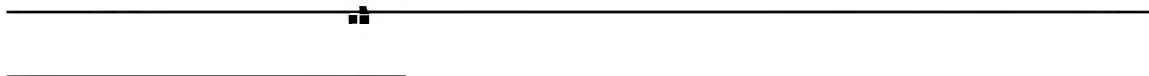
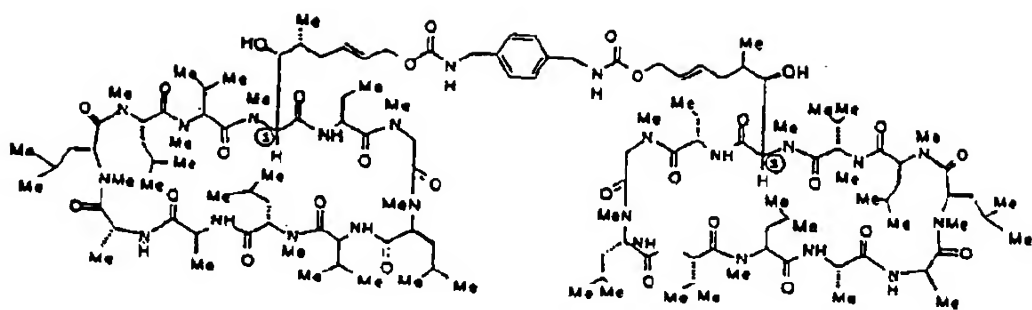
“

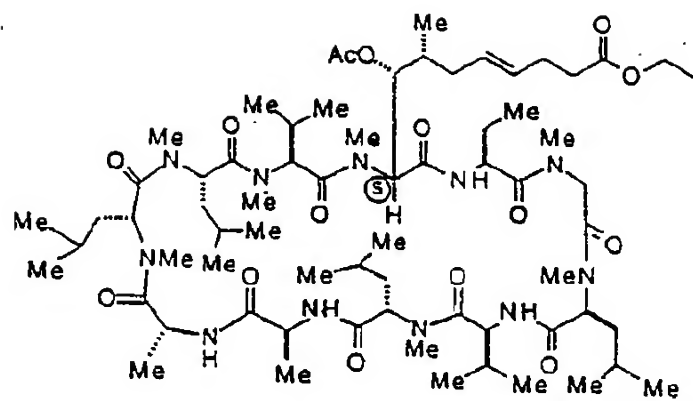
”

”



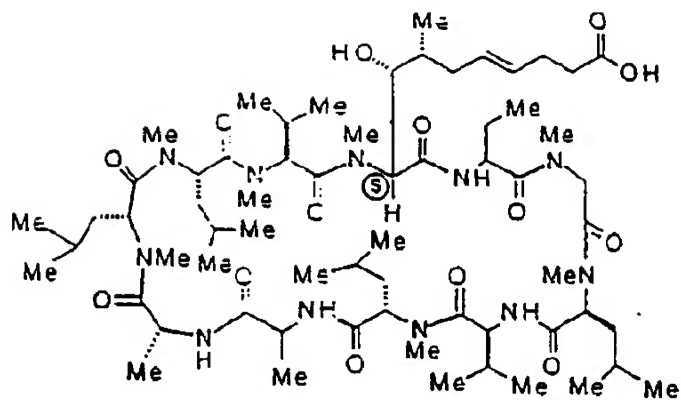






■

4

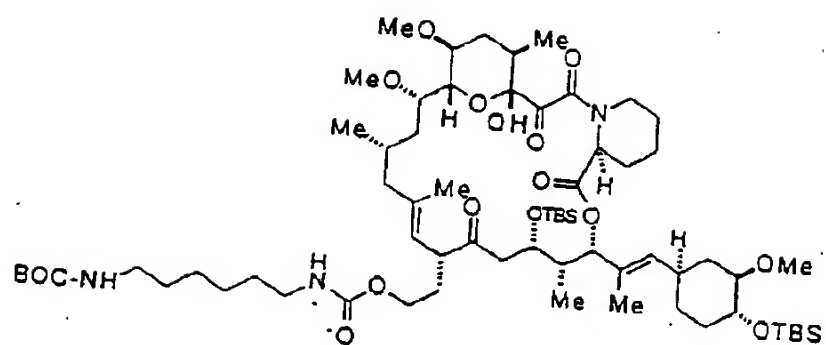


■

■

■

18



■

■

■

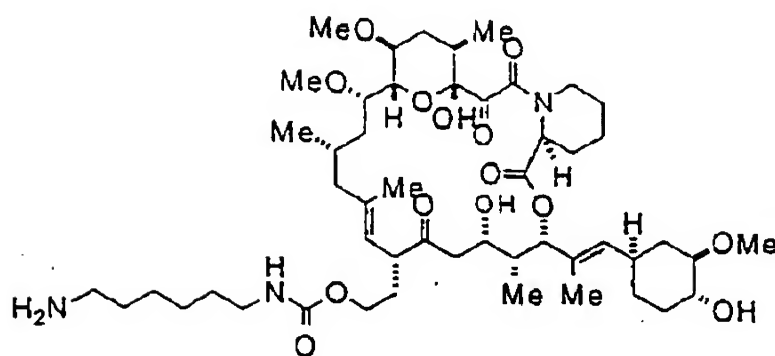
■

■

18

18

■



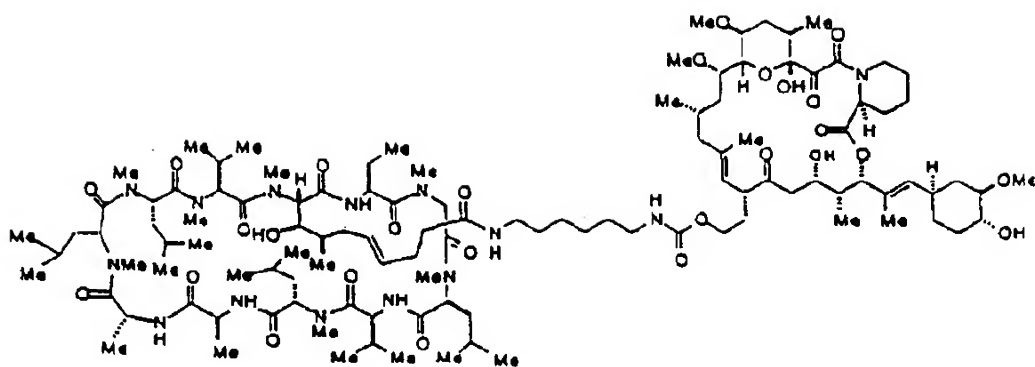
■

■

■ ■

■

18
22



■

■

■

■

■

■

■

■



1

2

3

4

5

6

7

8

9

■

■

■

■

11206

NdeI

5NdFK: 5'-GGAATTC CAT ATG GGC GTG CAG G-3'

H M G V Q

11207

SmaI

3SmFK37: 5'-CTGTC CCG GGA NNN NNN NNN TTT CTT TCC ATC TTC AAG C-

R S X X X K K G D E L

11208

SmaI

3SmFK27: 5'-CTGTC CCG GGA GGA ATC AAA TTT CTT TCC ATC TTC AAG CA

R S S D F K K G D E L M

NNN NNN NNN GTG CAC CAC GCA GG-3'

X X X H V V C

11209

BamHI

3BmFK98: 5'-CGC GGA TCC TCA TTC CAG TTT TAG AAG CTC CAC ATC NNN

END E L K L L E V D X

NNN NNN AGT GGC ATG TGG-3'

X X T A H P

11210

BamHI

3BmFK: 5'-CGC GGA TCC TCA TTC CAG TTT TAG AAG C-3'

END E L K L L

プライマーの表： 代償性突然変異をスクリーニングするのに使用される局所的に局在化したhF K B P 1 2 cDNAライブラリーの構成に使用されるプライマー



■

■

生

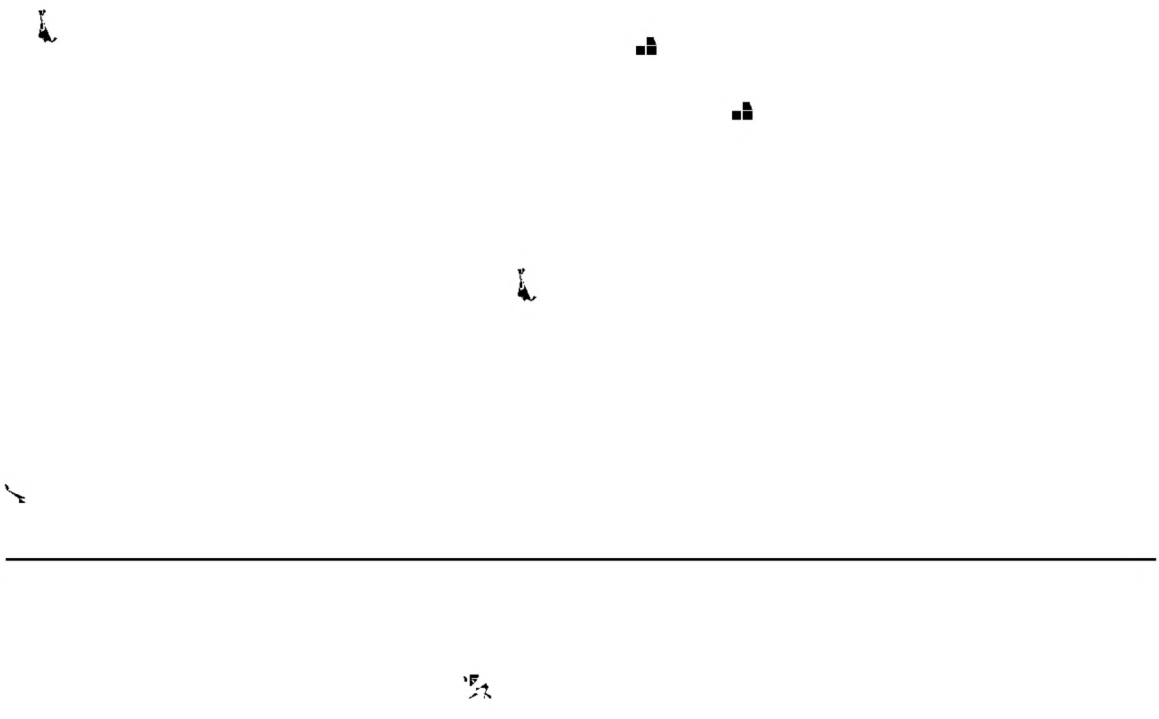
生

■

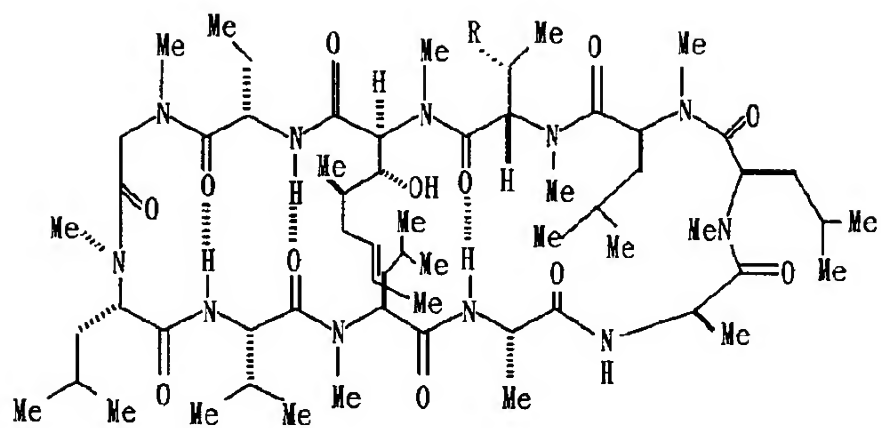
■

■

■

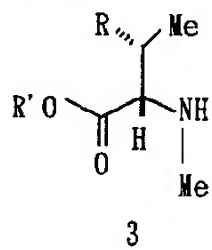




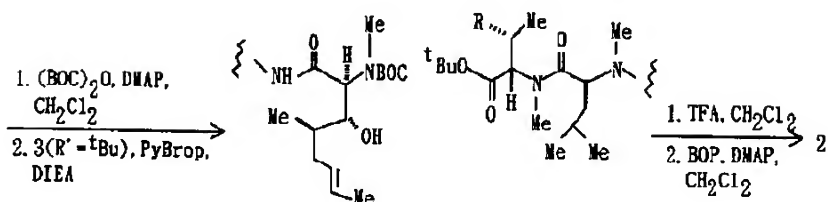
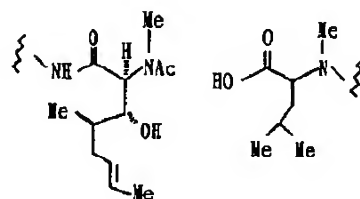
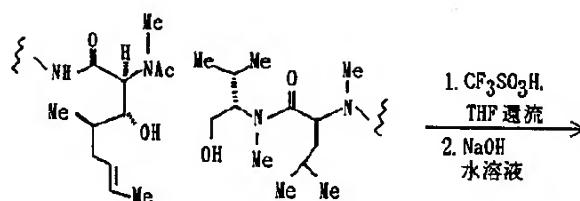
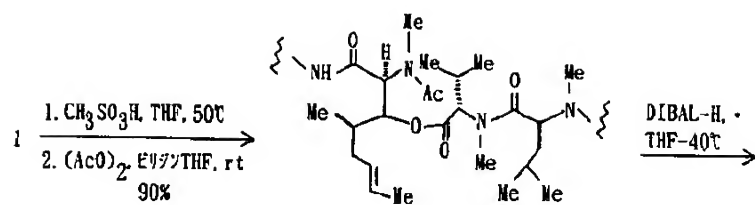


1(R=Me):CsA

2(R≠Me):修飾 [MeVal¹¹]CsA



3



2

3

4

5

1

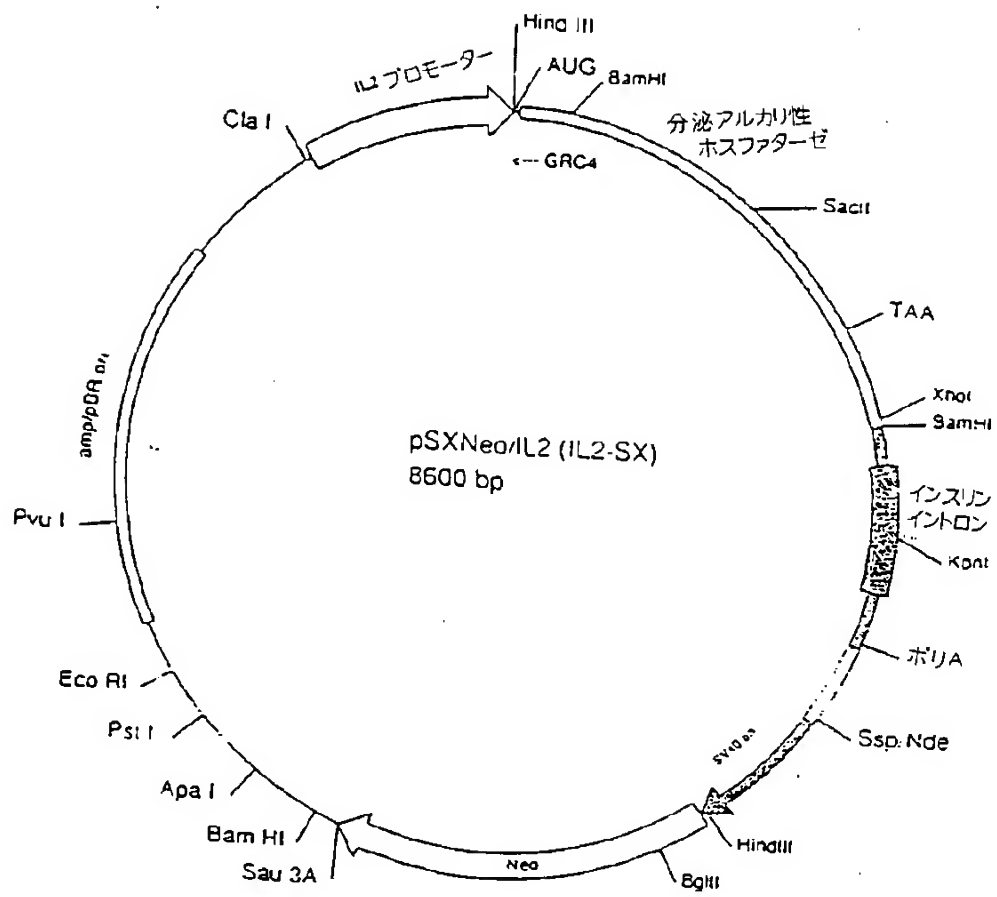
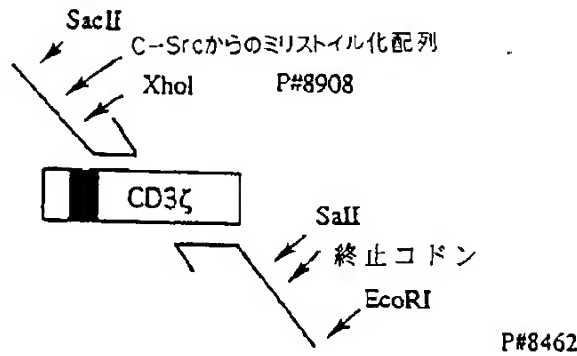


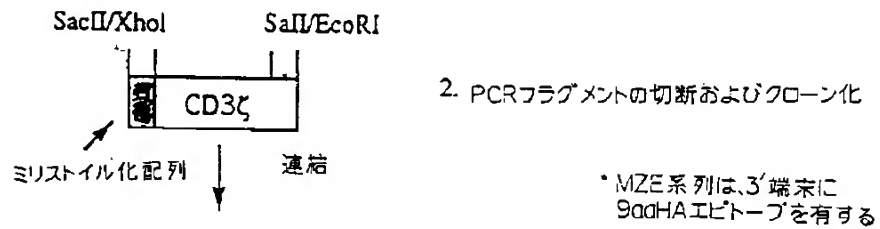
Figure 1/21

細胞内シグナリングキメラの構築：

1. ミリスティル CD3ζのPCR

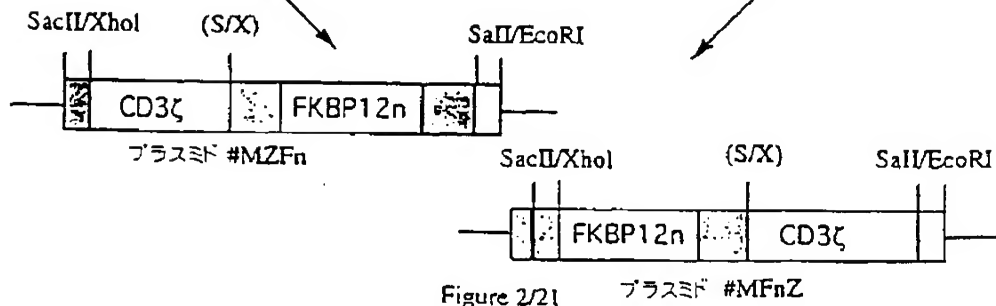


2. PCRフラグメントの切断およびクローン化



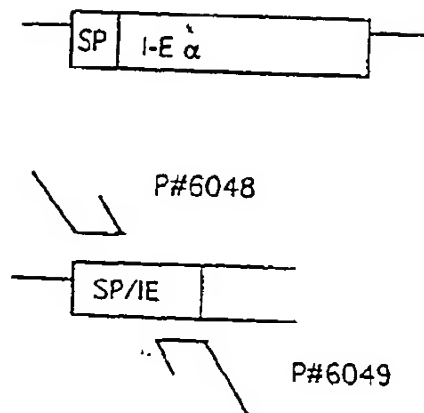
3. 配列インサート

4. XhoI または SacII で切断し、FKBPドメインを加える

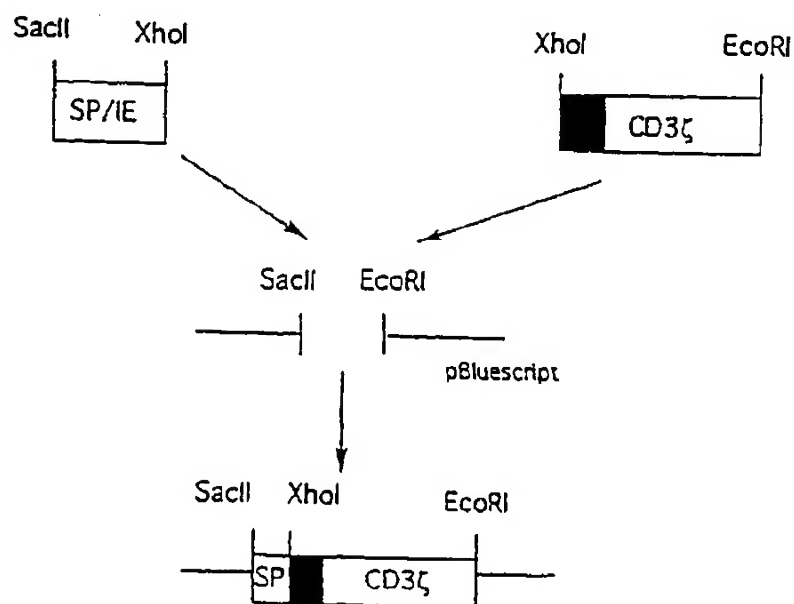
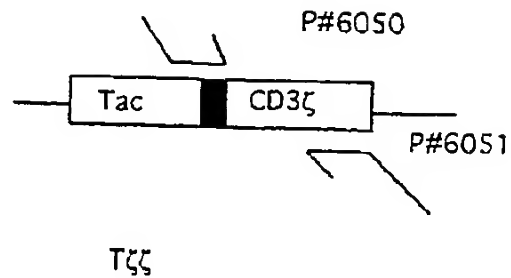


細胞外シグナリングキメラの構築：

1. ネズミシグナルペプチドのPCR



2. CD3 質膜・細胞質
ドメインのPCR



プラスミド #SPZ/KS
配列インサート

XhoI 切断

Figure 3A/21

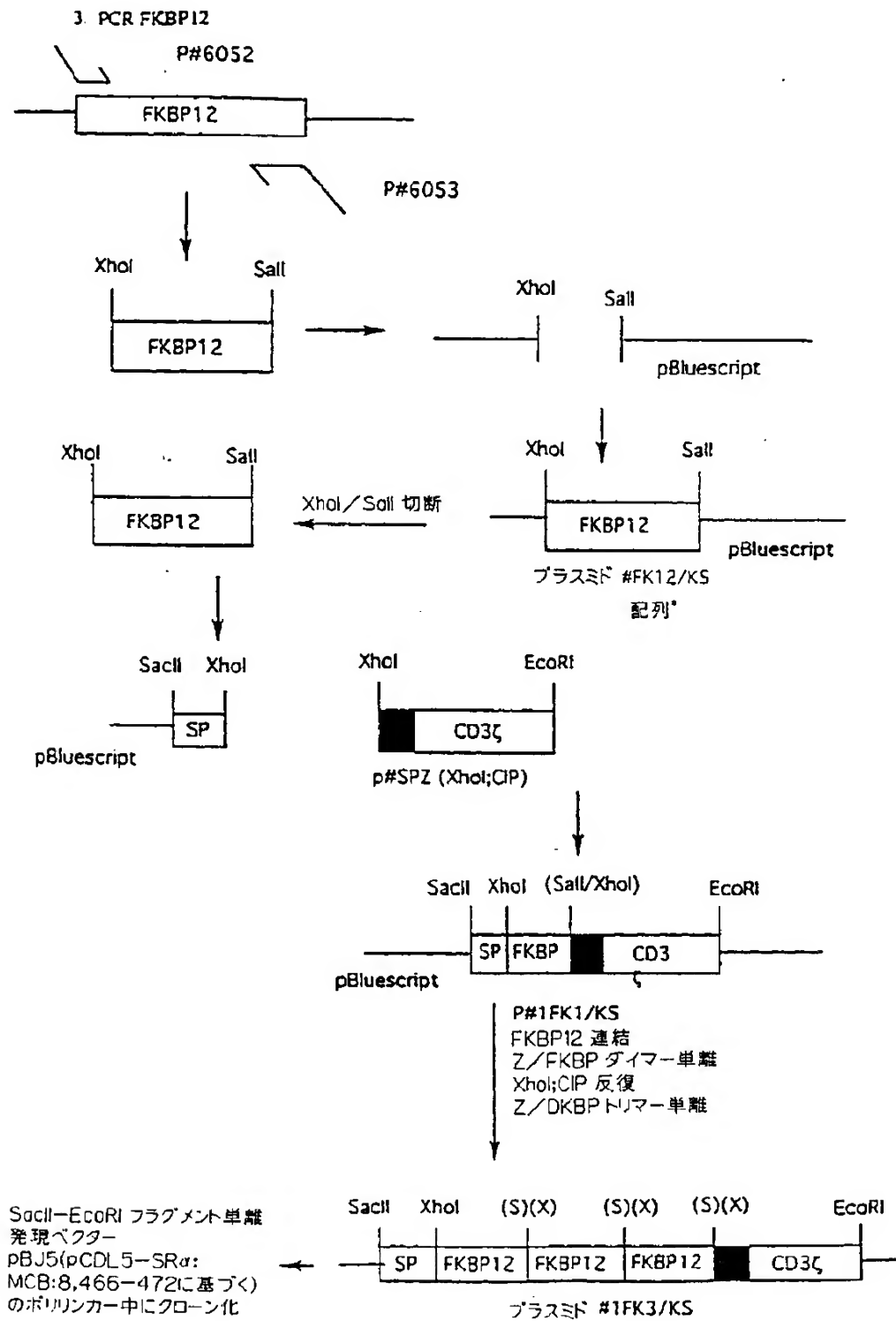


Figure 3B/21

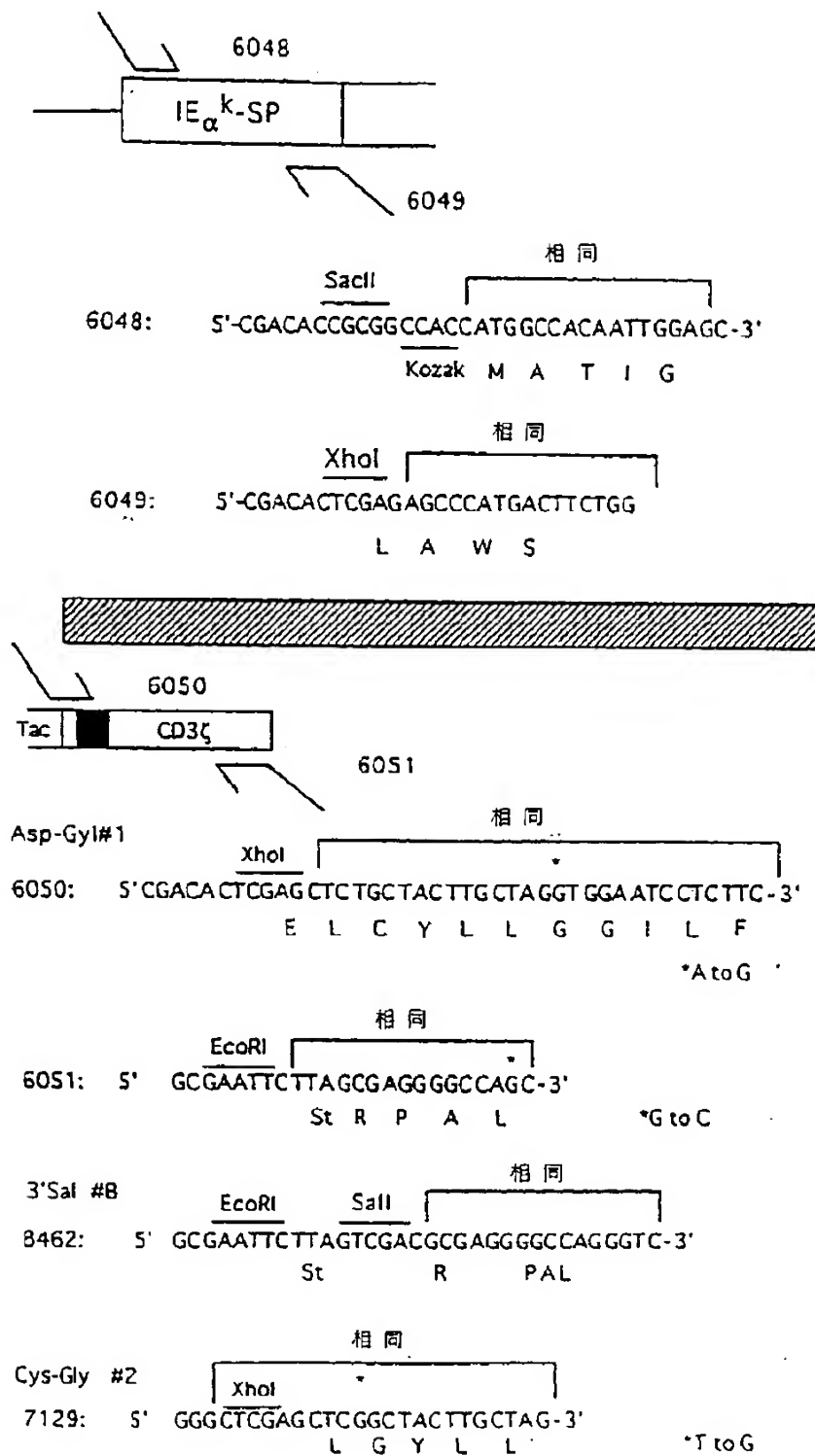


Figure 4A/Z1

CYCC

6568: 5'-CGACACTCGAGGTGACGGACAAGGTC-3'

6569: 5'-CGACAGTCGACCCAATCAGGGACCTC-3'

エピトープ

7850: 5'-TCGAGTATCCGTACGACGTACCAAGACTACGCAG-3'

7851: 5'-TCGACTGCGTAGTCTGGTACGTCGTACGGATAC-3'

エピトープ : 5SEP, 3XEP

8922: 5'-TCGACTATCCGTACGACGTACCAAGACTACGCAC-3'

8923: 5'-TCGAGTGCCTAGTCTGGTACGTCGTACGGATAG-3'

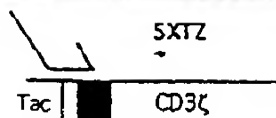
C-5'rcからミリスチル化 SSMXZ

8908: 5'-CGACACCGCGGCCACCATGGGGAGTAGCAAGAGCAAGCCT

KOZAK M G S S K S K P

AAGGACCCAGCCAGCGCCTCGAGAGGAGTGCAGAGACTG-3'

K D P S Q R L E R S A E T



8912: 5'-CGACACTCGAGGAGCTCTGTGACGATG-3'

E L C D D

Figure 4B/21

Asp-Lys #4
 8061: 5'-CGACACTCGAGCTCTGCTACTTGCTAAAGGGAATCCTCTTC-3'
 E L C Y L L K G I L F

相同

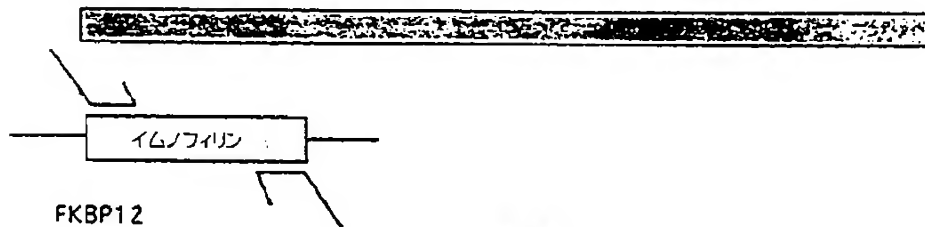
*GATtoAAG

#4 伸長
 8907: 5'-CGACACTCGAGCTGCTGGATCCGAAGCTCTGCTACTTGCTAAAG-3'
 E L L D P K L C Y L L K

相同

TAC-Tm #3
 7220: 5'-CGACACTCGAGACAACAGGTACCAGGTAGC-3'
 E T T E Y Q V

相同



6052: 5'-CGACACTCGAGGGCGTGCAGGTGGAGAC-3'
 E G V Q V E

相同

6053: 5'-CGACAGTCGACTTCAGTTT TAGAAGC-3'
 V E L K L L

相同

FKBP13
 8460: 5'-TCGACACTCGAGACGGGGCCGAGGGC-3'
 E T G A E G

相同

8461: 5'-CCGACAGTCGACCTCTAT TTT GAGCAGC-3'
 V E I

相同

Figure 4C/21

TAC / CD3 ゼータ架橋形成
による種々の転写因子の誘導

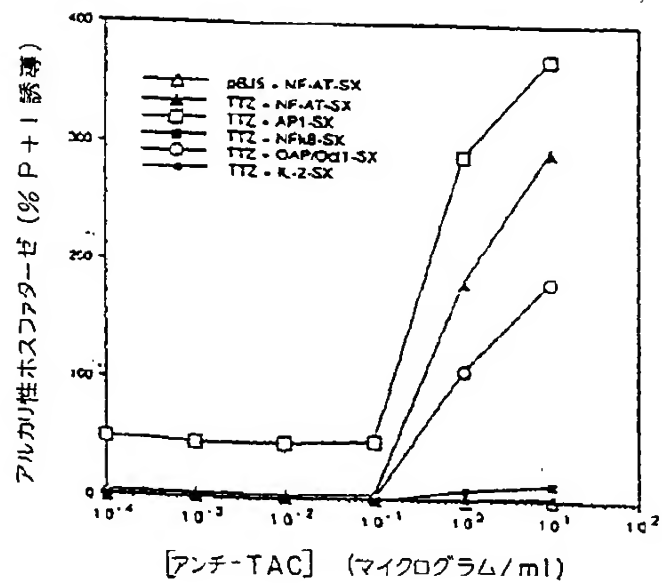


Figure 5/21

二量体FK506およびCsAの阻害活性

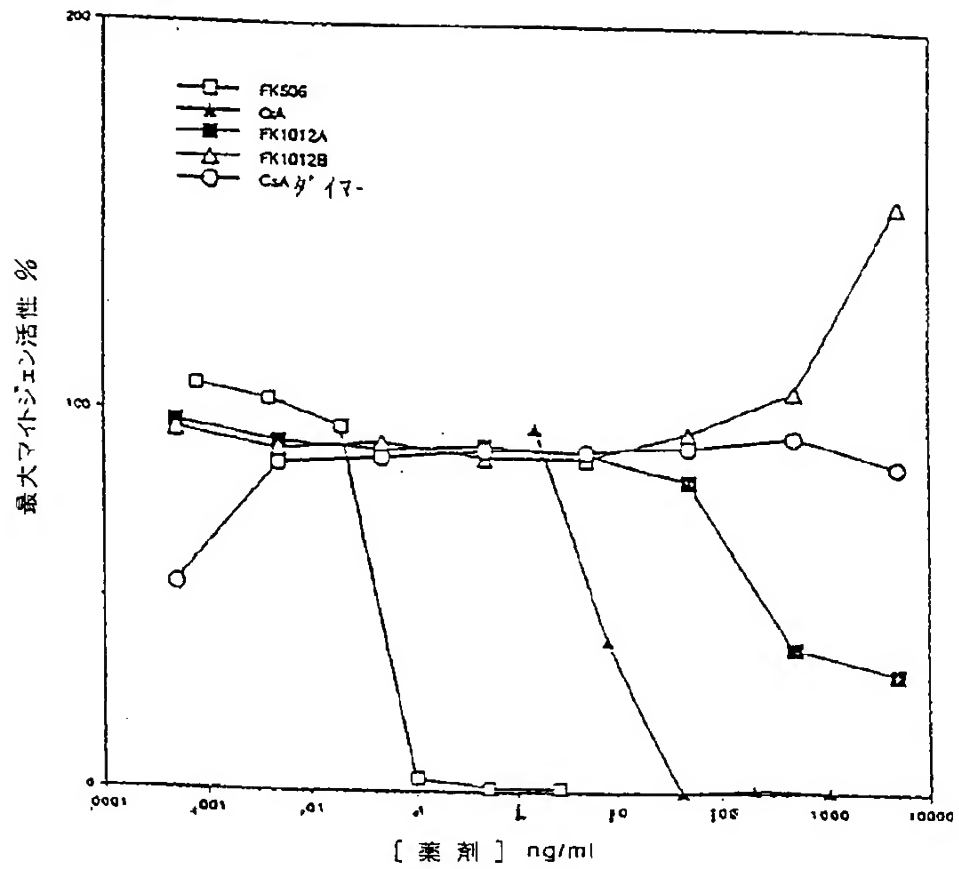
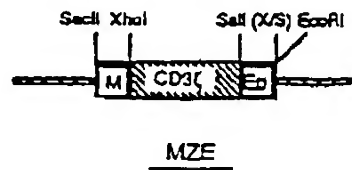
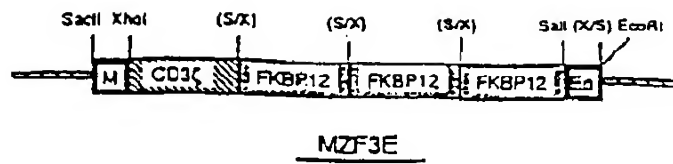
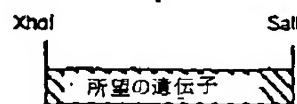
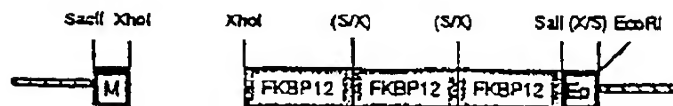
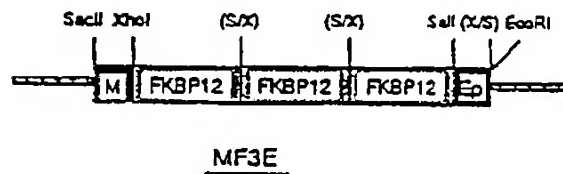


Figure 6A/21



Cut XhoI/SalI; CIP; + FKBP12 X 3



- 1、表面受容体の細胞質部分
- 2、チロキシンキナーゼ
- 3、転写因子
- 4、その他

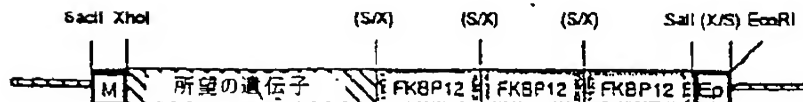


Figure 6B/21

キメラFKBPX3 / CD3ゼータ受容体に対するFK1012Aの活性

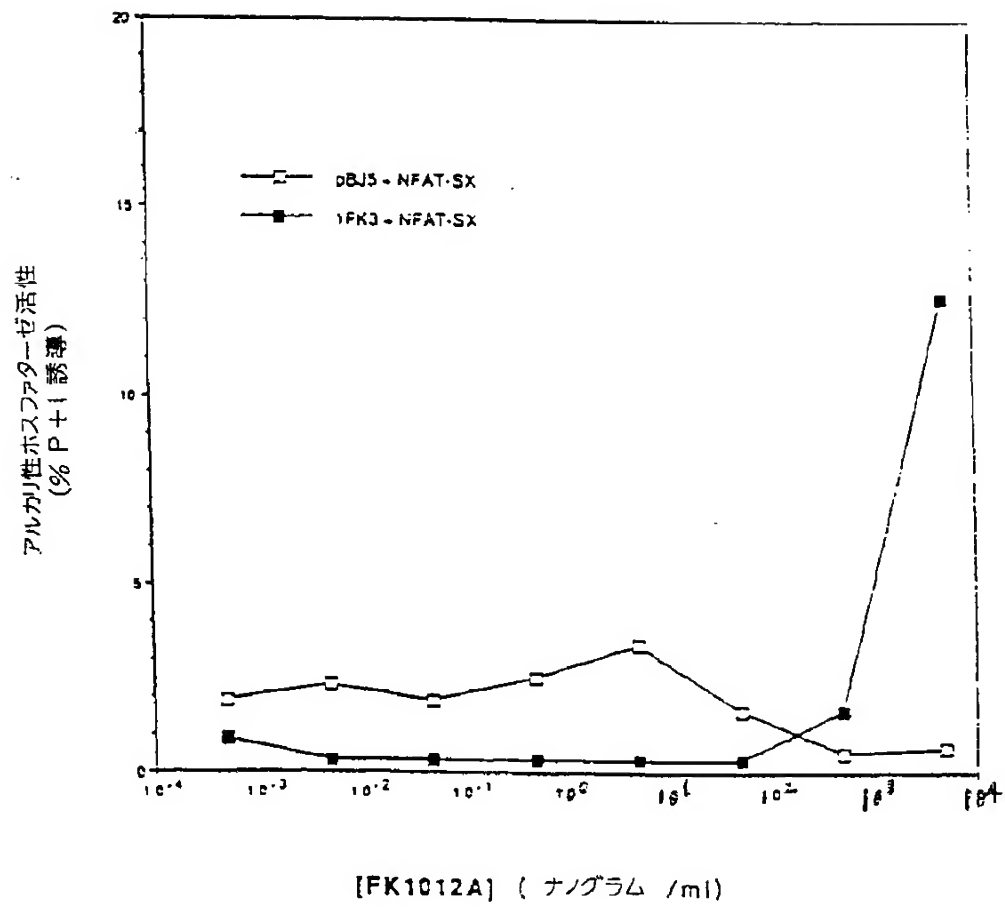


Figure 7/21

ミリスチル化CD3ゼータ/FKBP12キメラによる
シグナリングを経たNFATレポーターの活性化

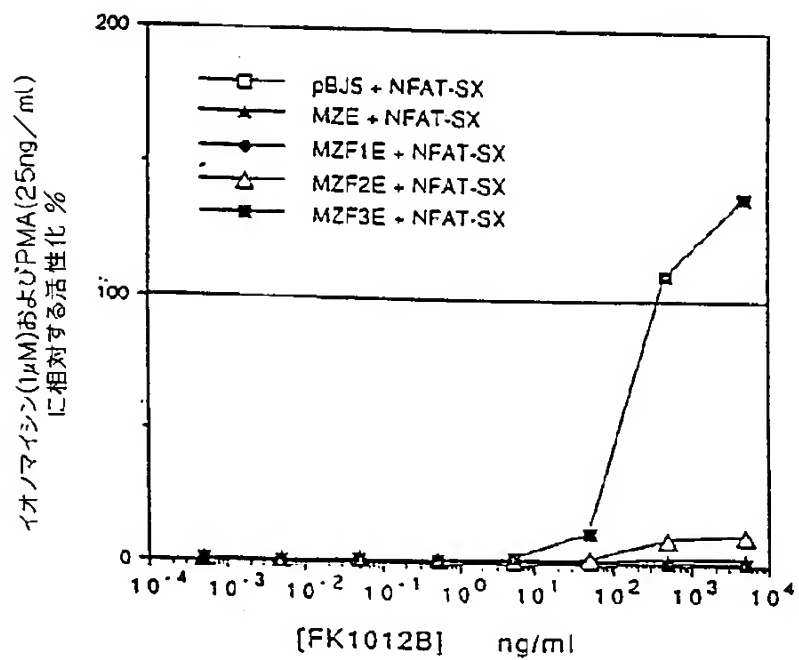


Figure 8/21

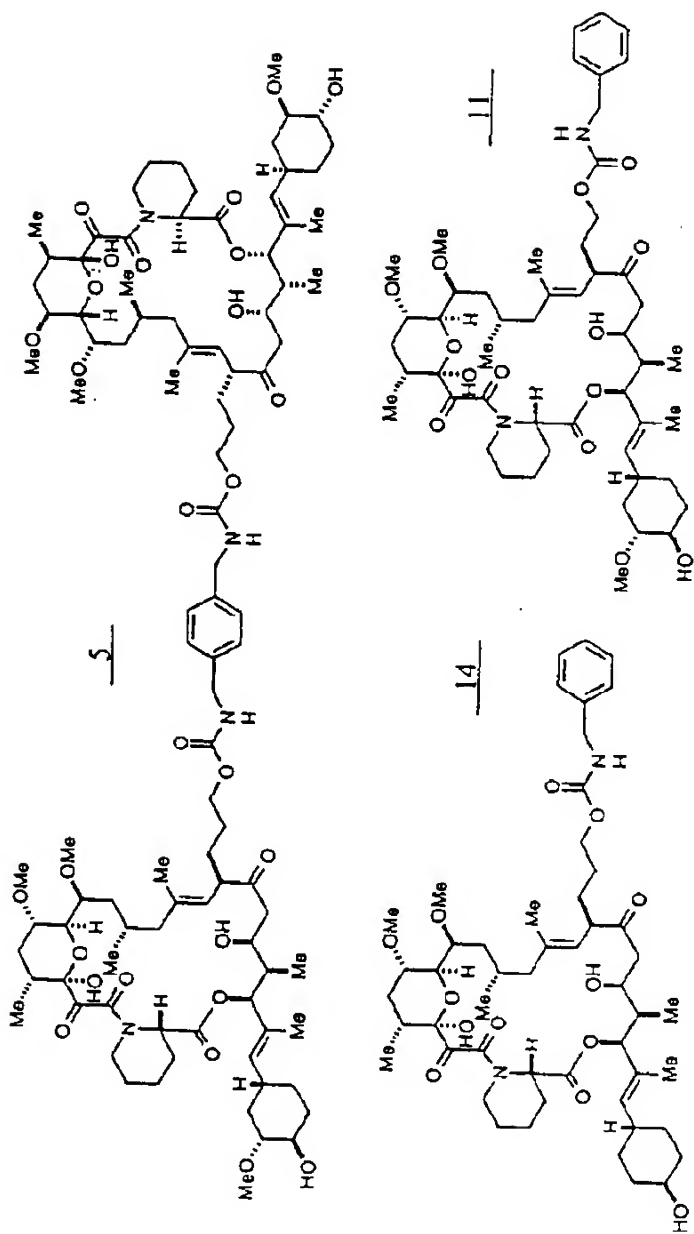


Figure 9A (#1)/21

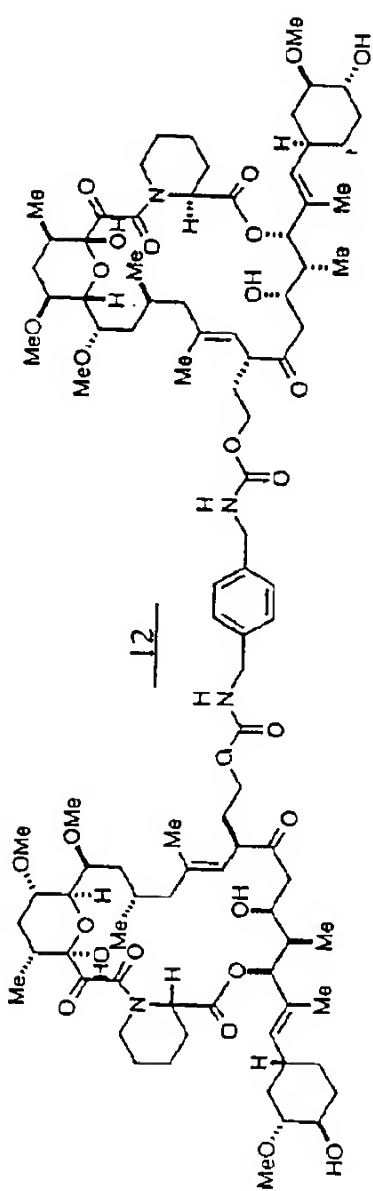
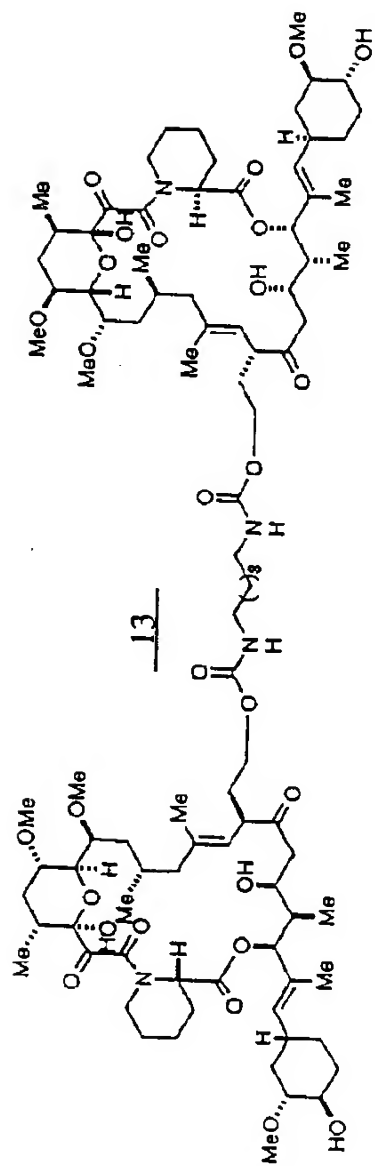


Figure 9A(#2)/21

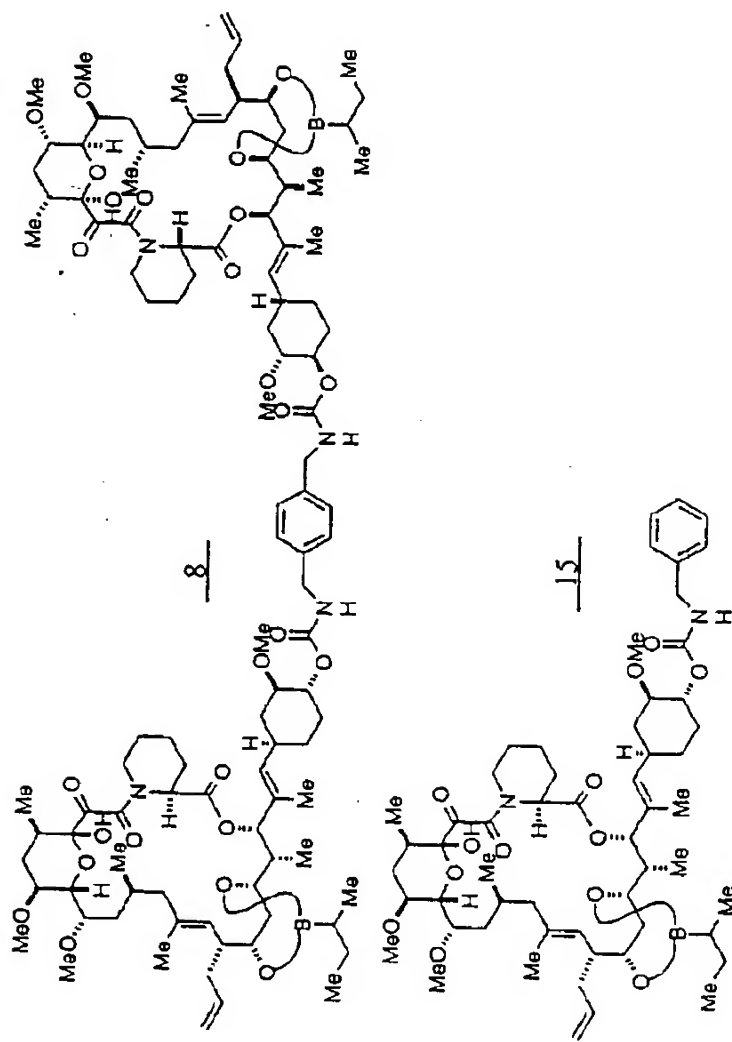
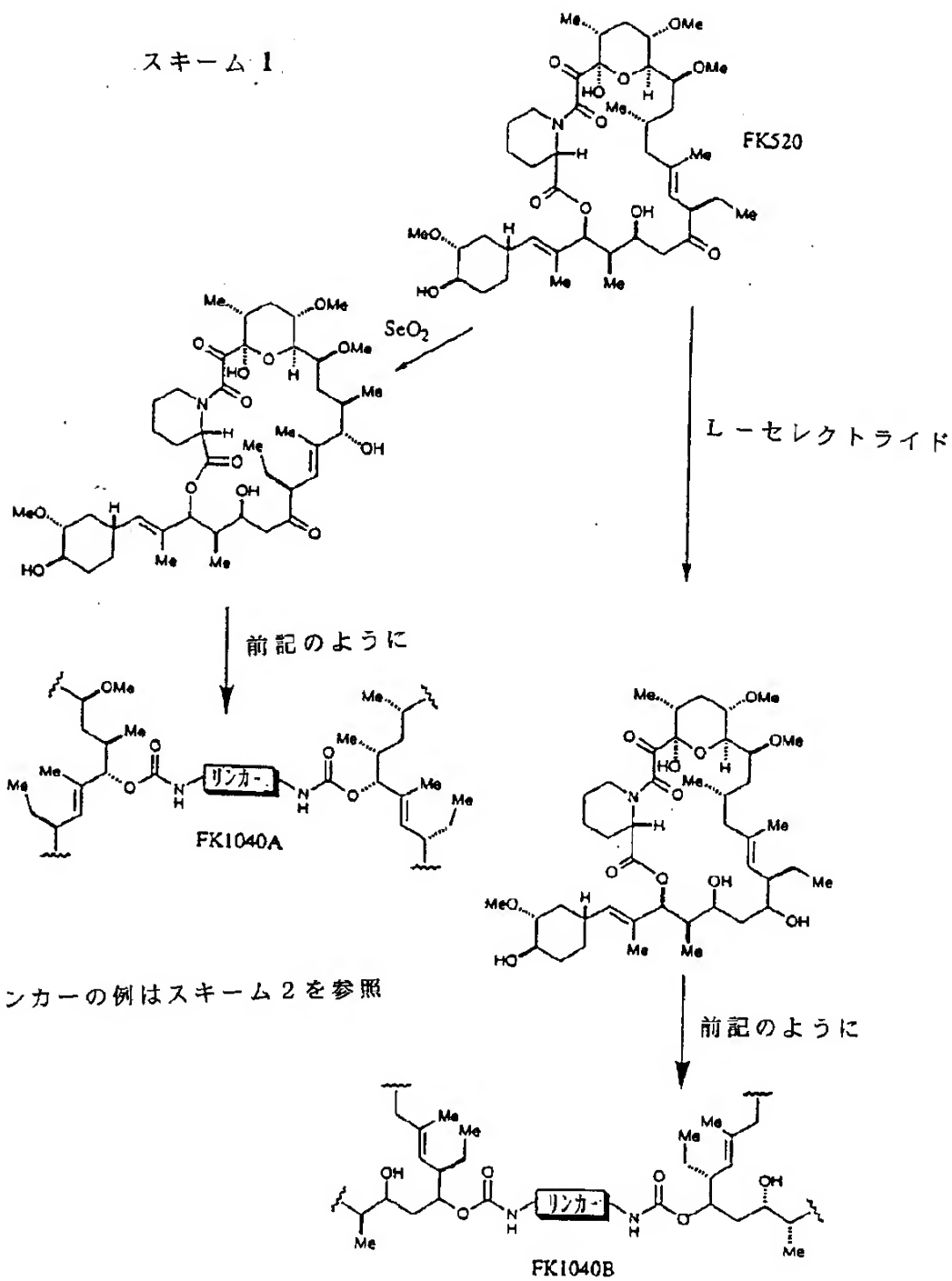


Figure 9B (#1)/21



Figure 9B (#2)/21

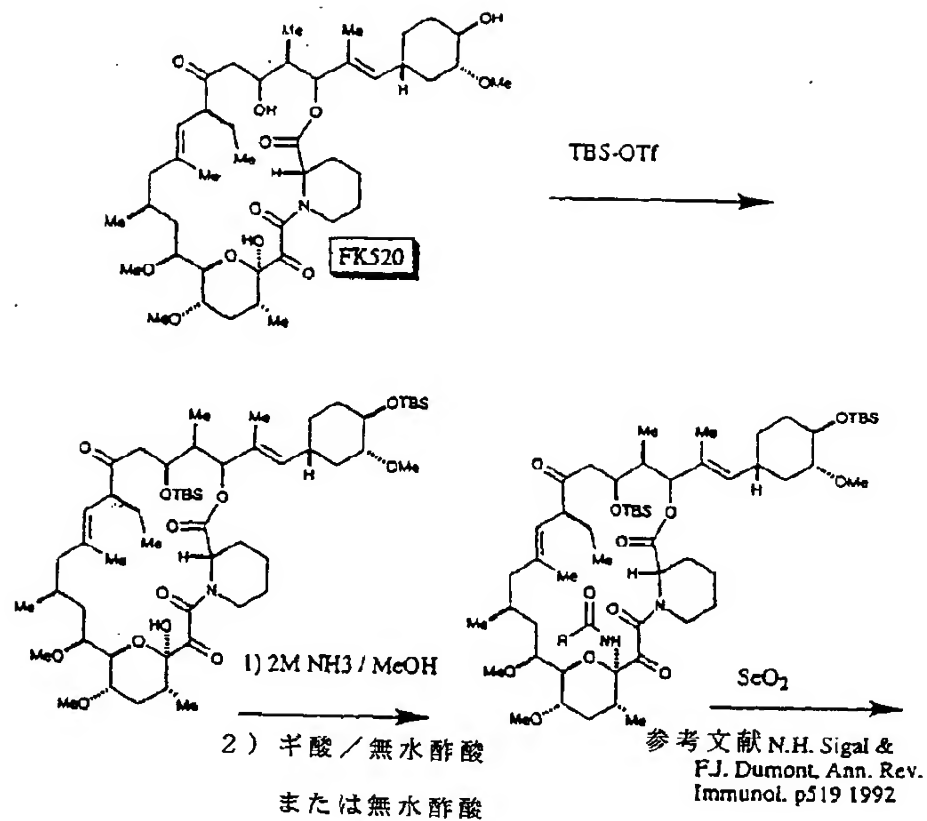
スキーム 1



リンカーの例はスキーム 2 を参照

Figure 10/21

スキーム 2 : ダイマーの合成



参考文献 : D.K. Donald et al. Tetrahedron Letters p1375, 1991, P.Kocovsky, Tetrahedron Letters p5521, 1992

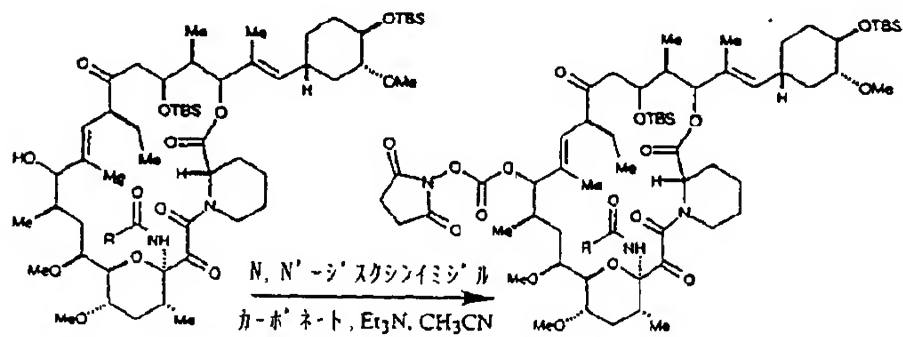


Figure 11A/21

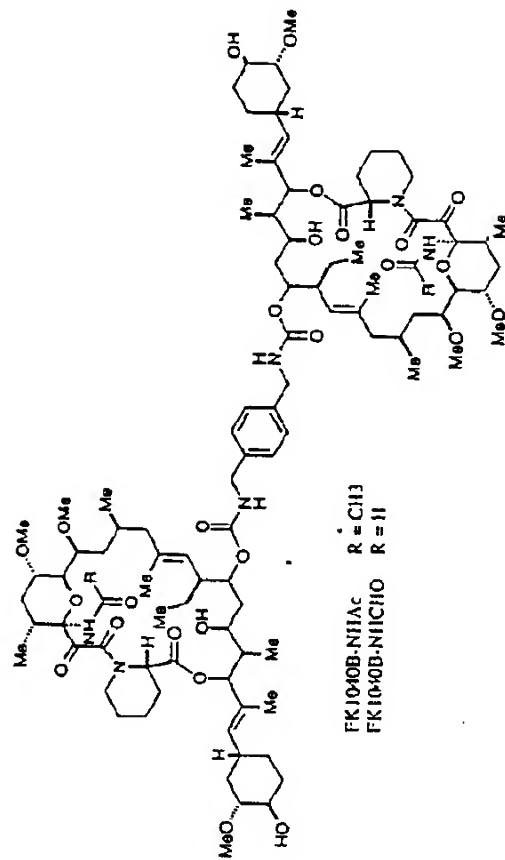
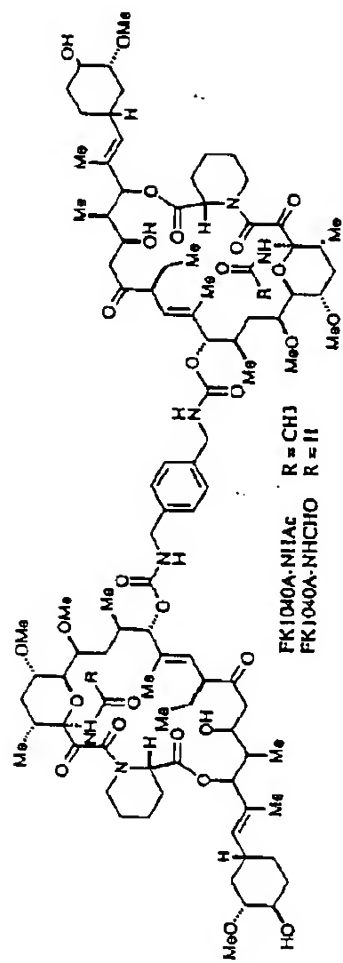


Figure 11B (#1)/21

FKBP12を妨害する追加修飾されたFK520 (FK1040) は依然とし

てFKBP12突然変異体を結合しなければならぬ：

F36AまたはF99AまたはY26Aまたはそれらの組み合わせは

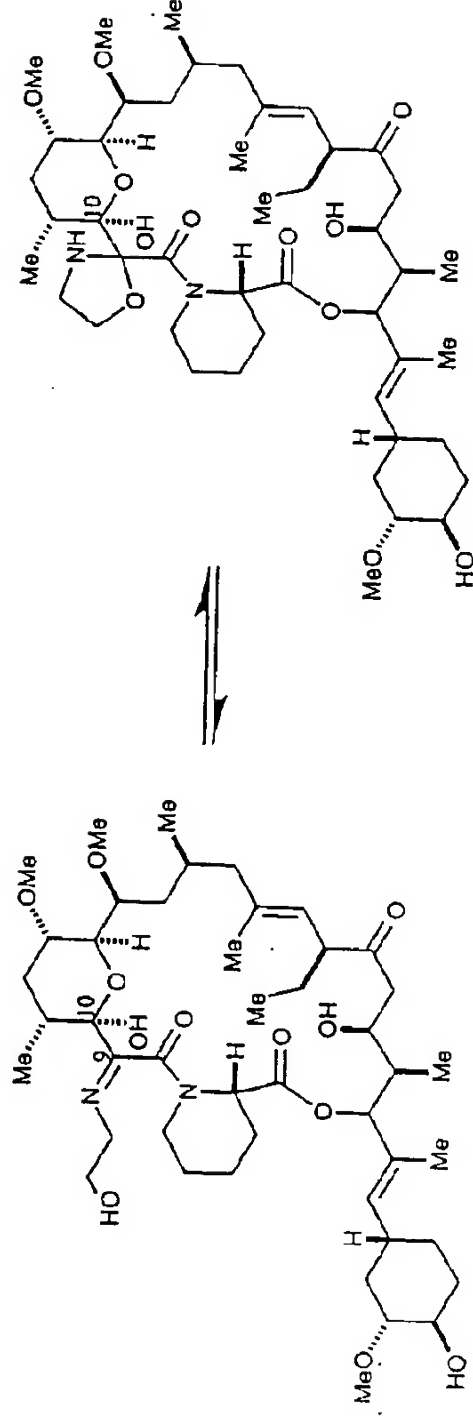


Figure 11B (#2)/21

スキーム 3 : ヘテロダイマー化

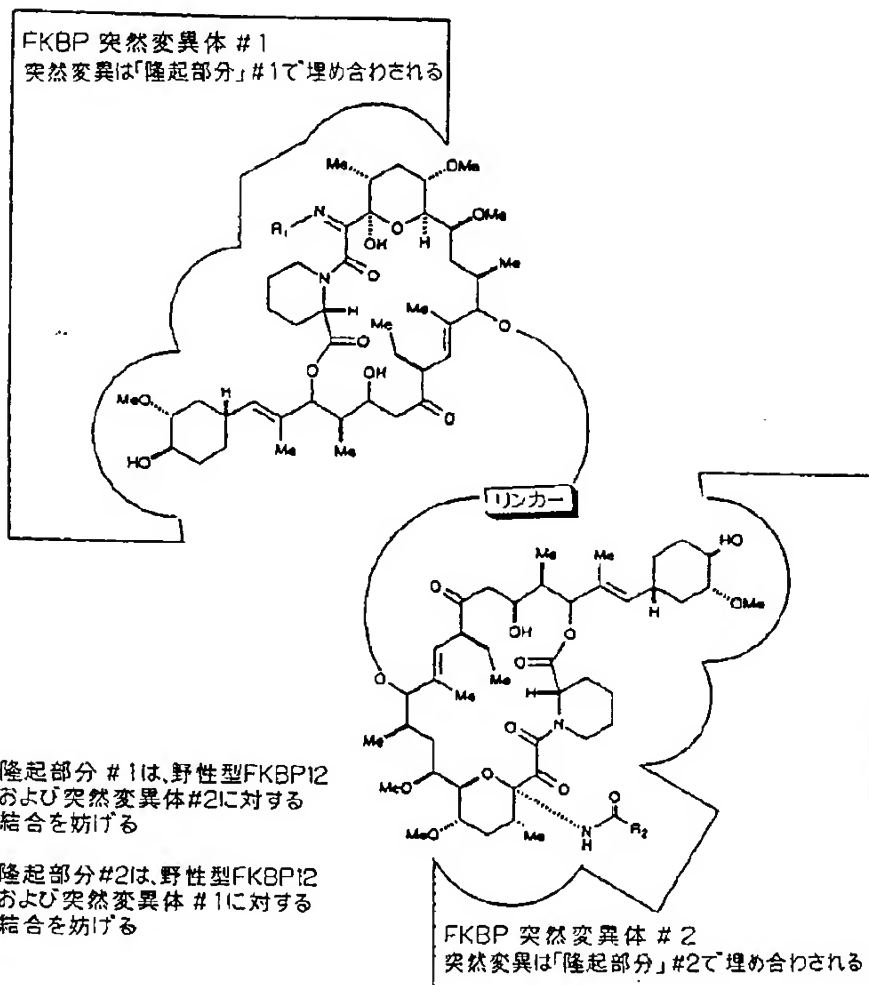
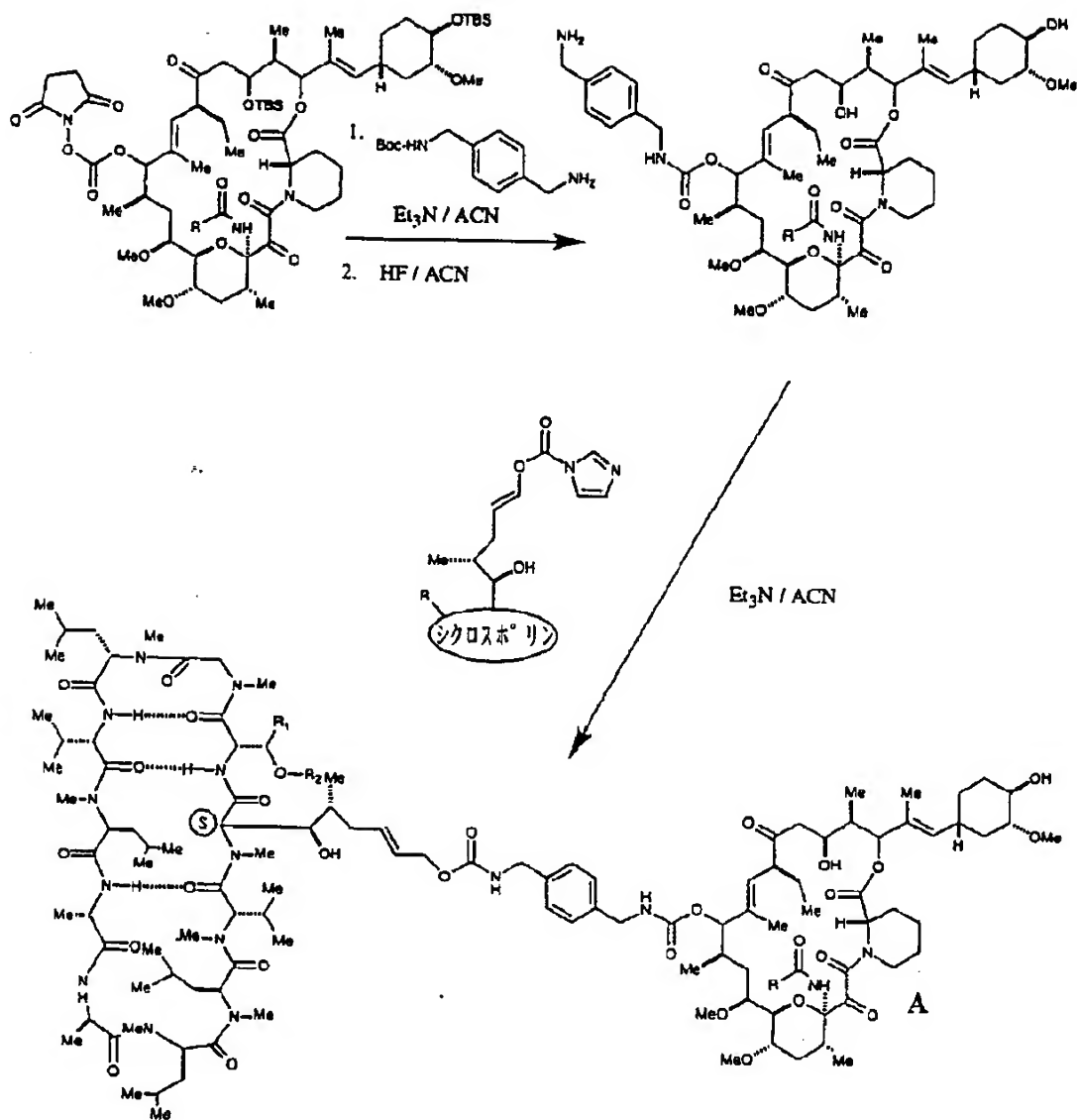


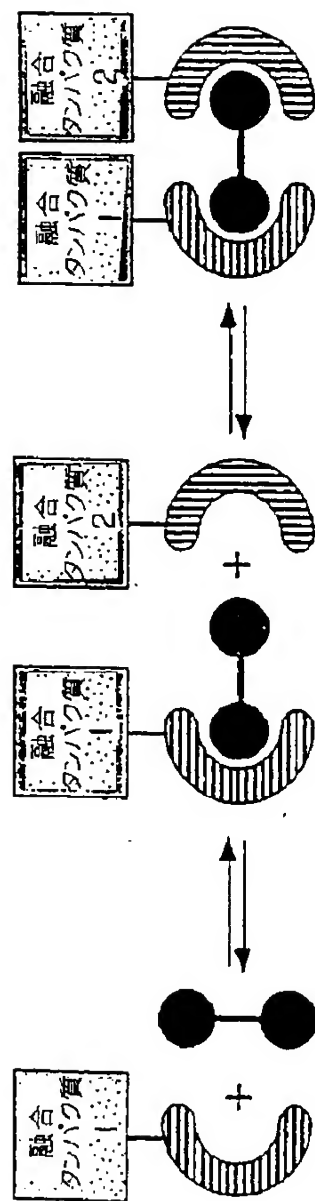
Figure 12/21

スキーム 3：ヘテロダイマーの合成



この実施例において、シクロスポリン類似体およびFK520A-NHCO-Rのヘテロダイマーがヘテロダイマー化された。しかしながら、本スキームは他のFK506/520誘導体を容易に取り込めてヘテロまたはホモダイマーを形成する

Figure 13/21



イムノアフィリン
(融合
タンパク質)

ダイマーリガンド
(HED/HOD)

1:1の複合体:
修飾エフェクタードメインは
カルシニューリンに対する
結合を妨げる

2:1の複合体:
リガンド誘導タンパク質ダイマー化

Figure 14/21

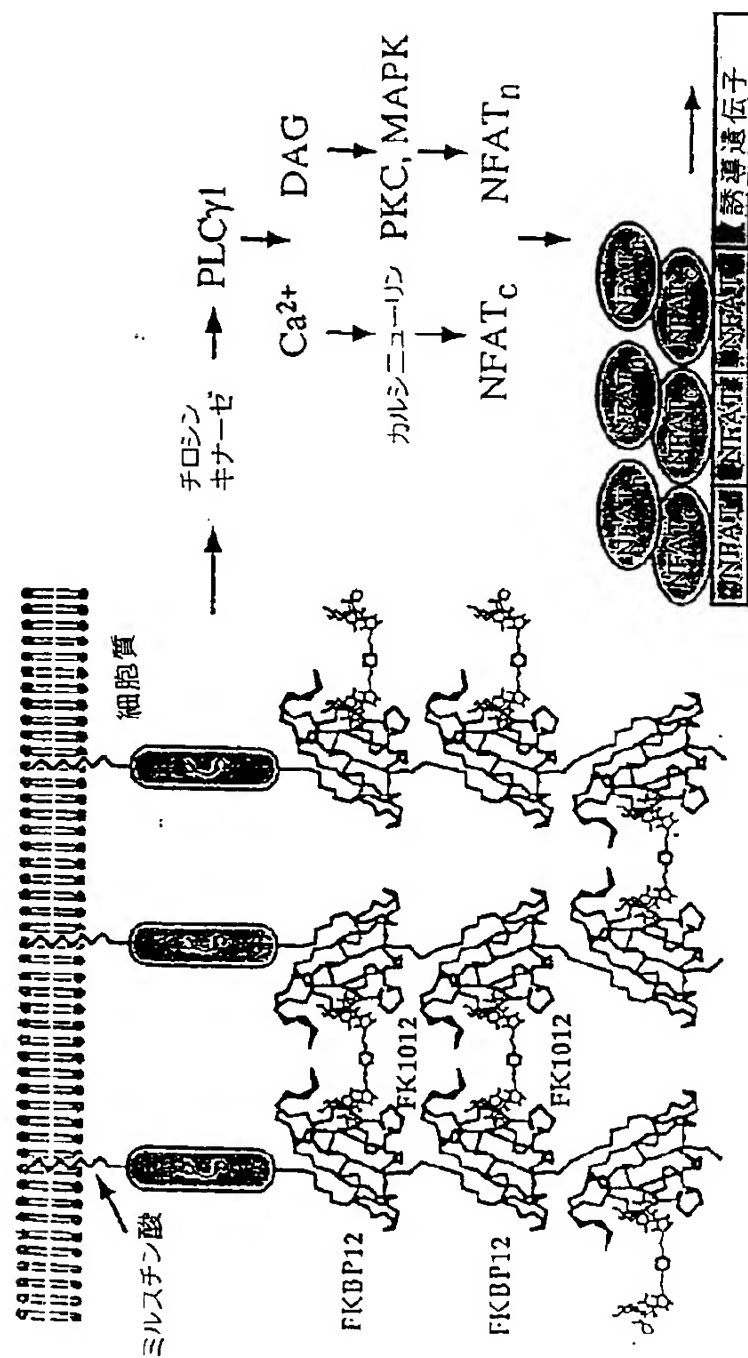


Figure 15/21

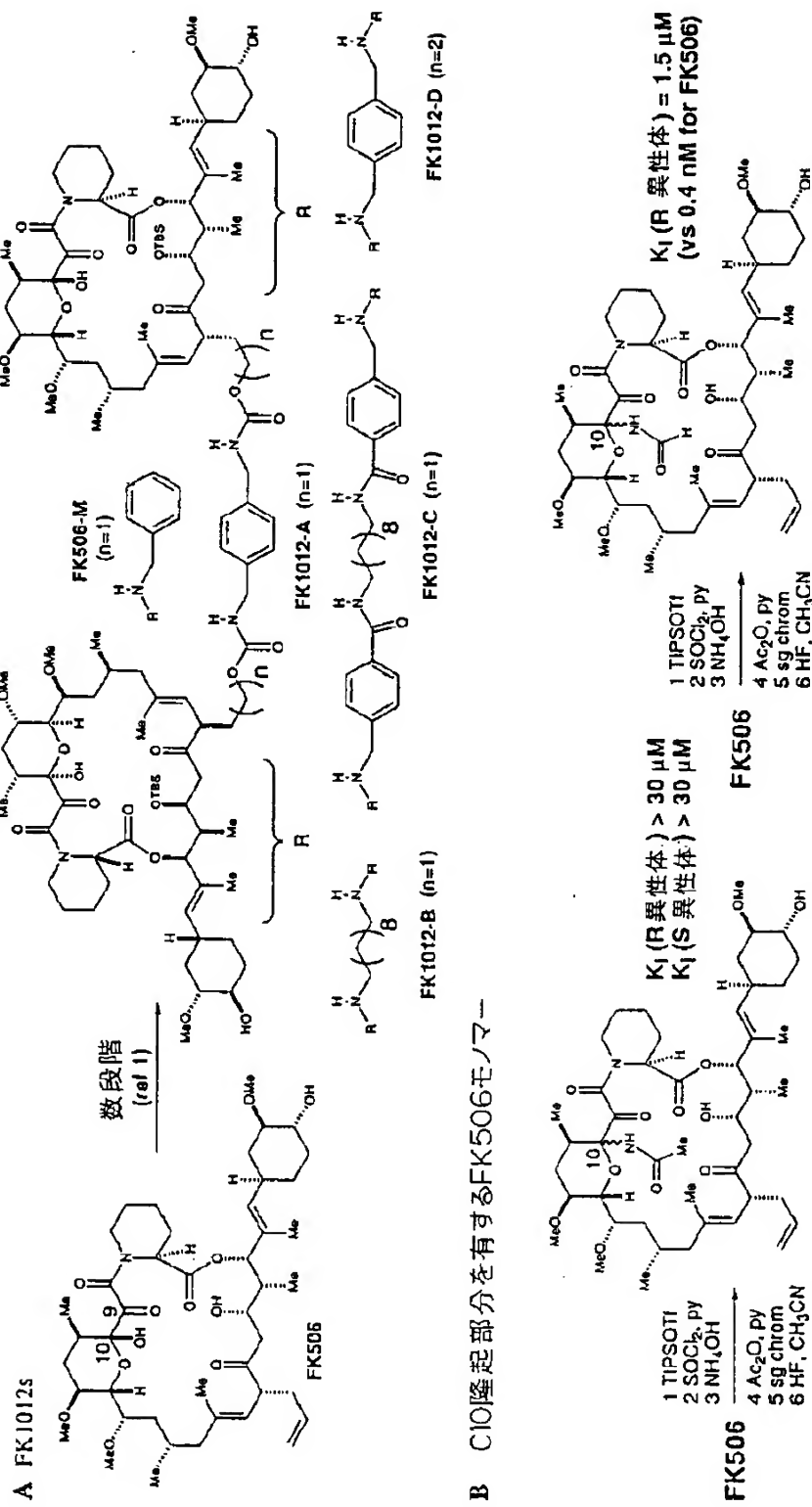
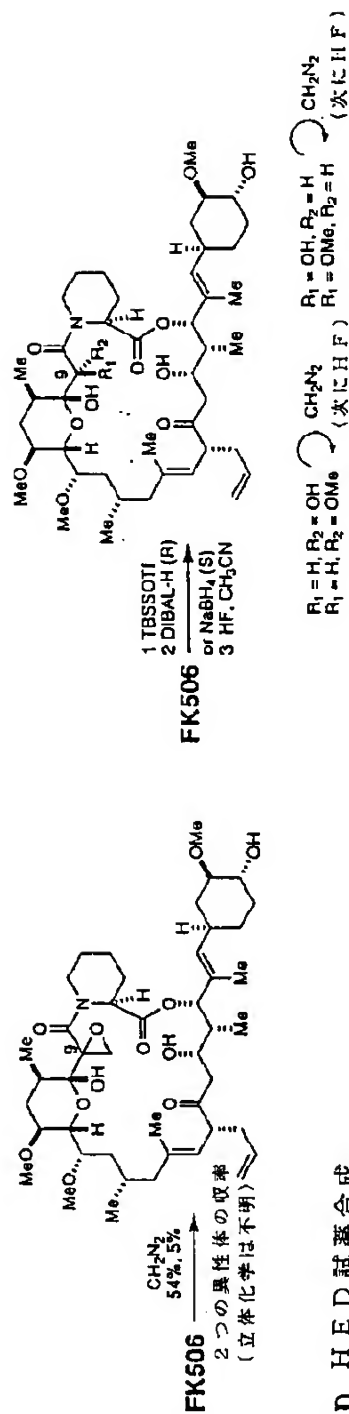


Figure 16 (#1)/21

C C 9 隆起部分を有する F K 5 0 6 モノマー



D H E D 試薬合成

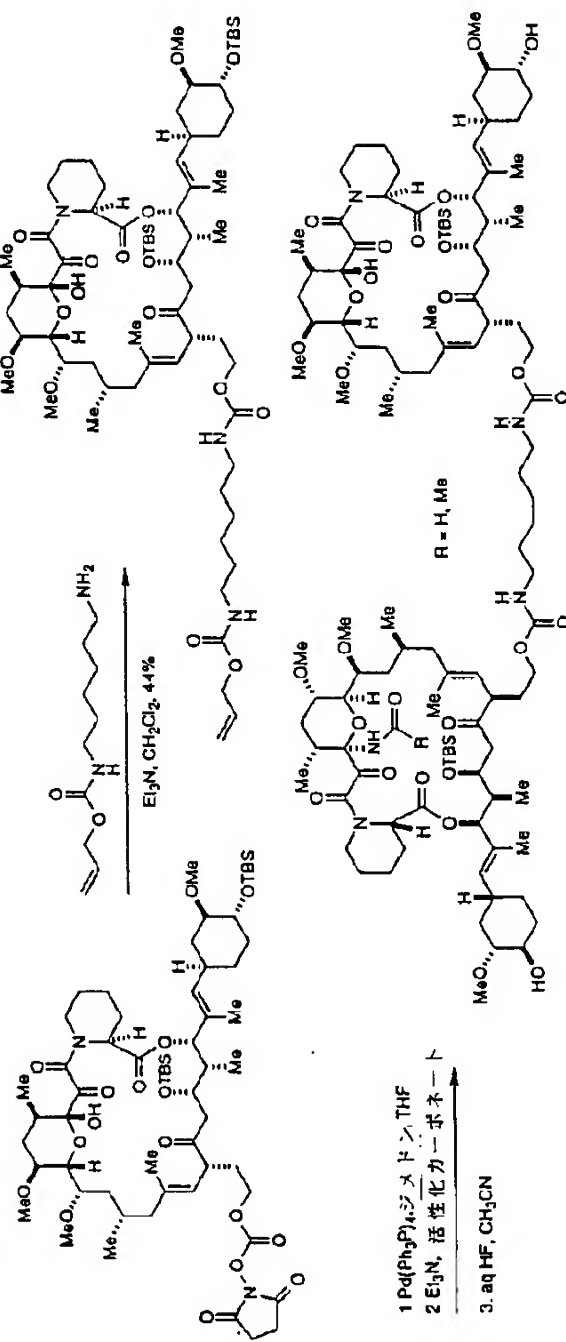


Figure 16 (#2)/21

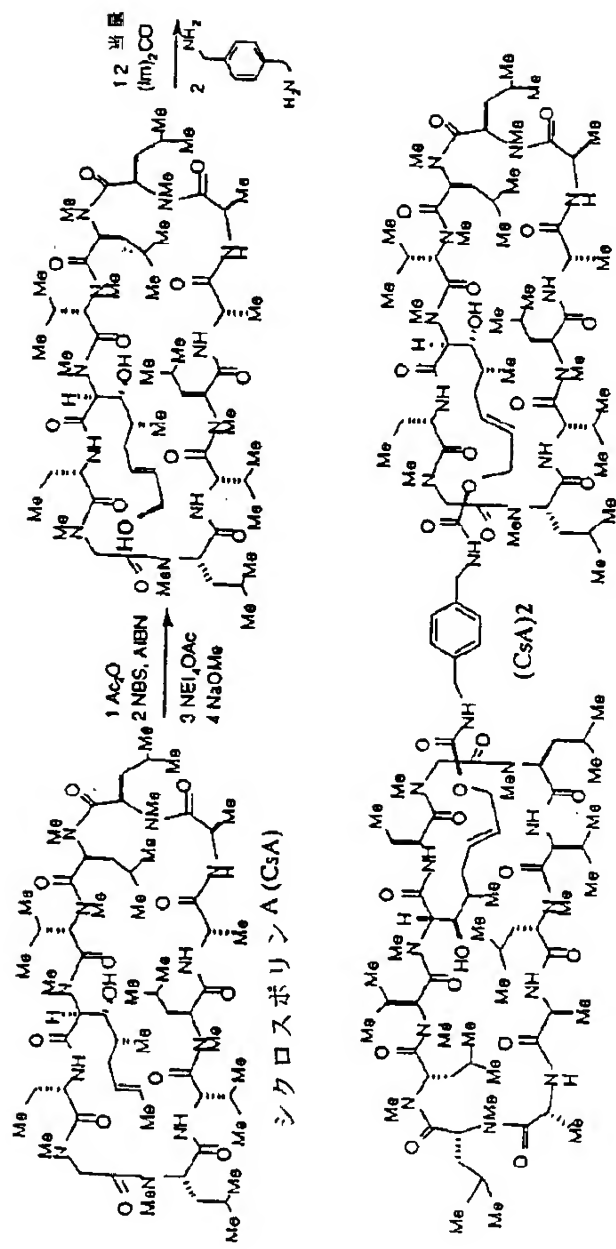


Figure 17/21

A cDNA 構築物

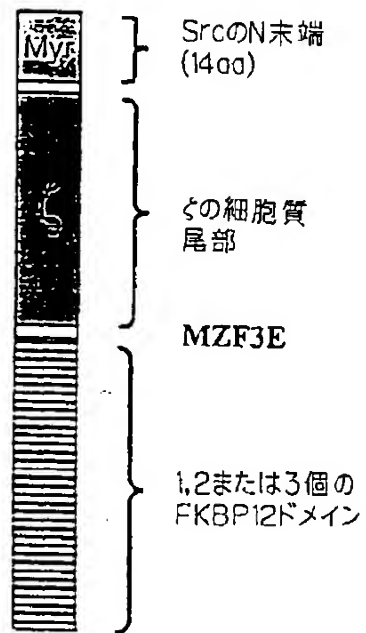


Figure 18A/21

B 発現されたタンパク質

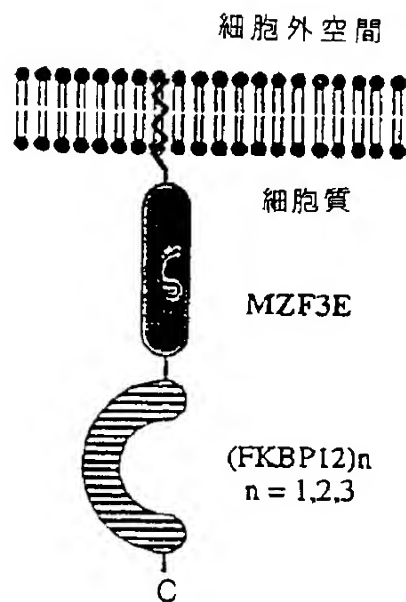


Figure 18B/21

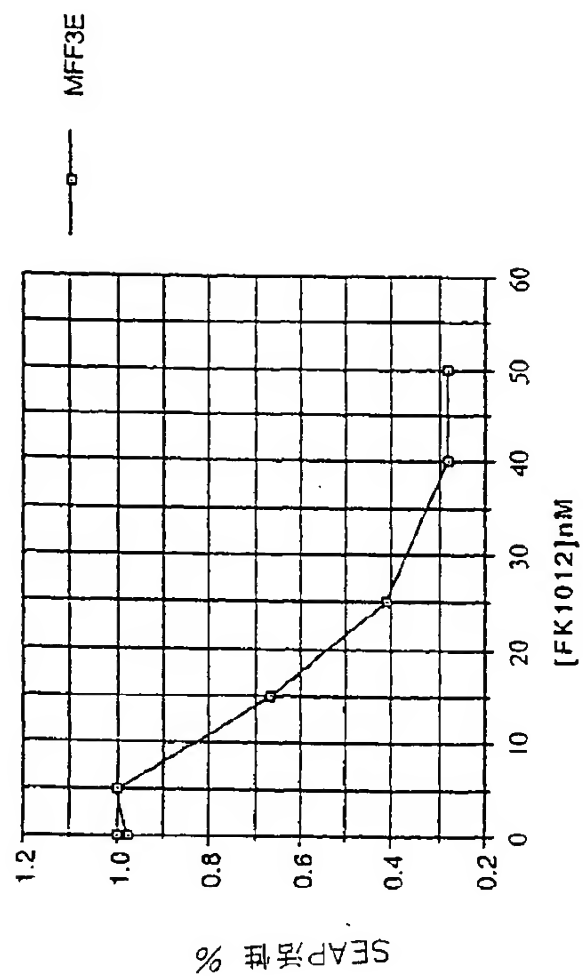


Figure 19/21

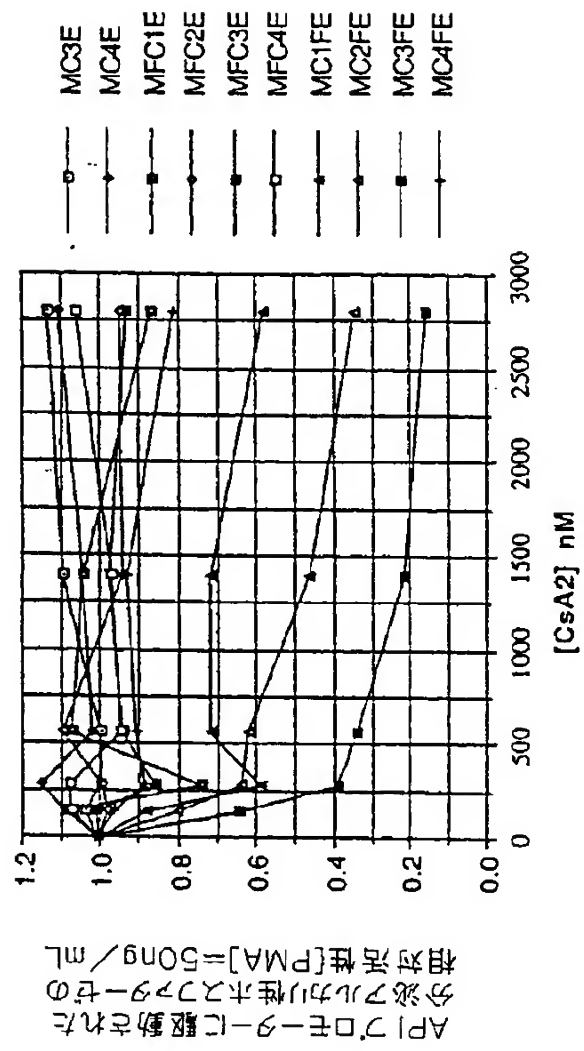


Figure 20A/21

ジェルカット
細胞の
LD50

相対
タンパク質
発現

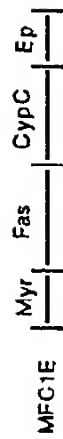
A



15 nM

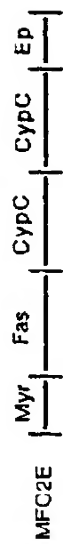
+

B



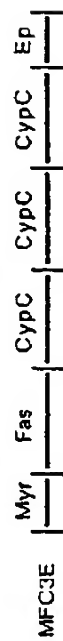
NA

-



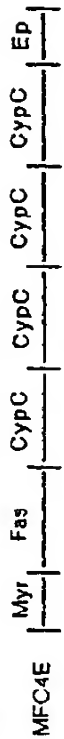
NA

-



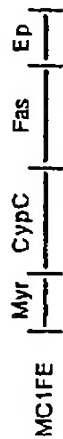
NA

-



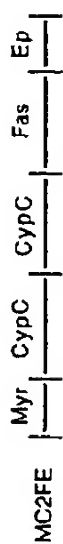
NA

-



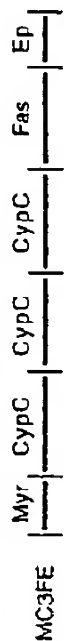
500 nM

+



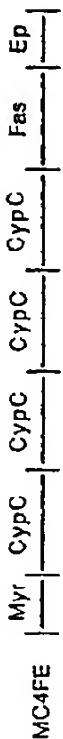
300 nM

+



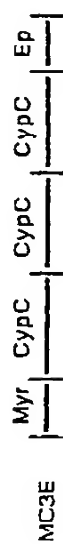
200 nM

+



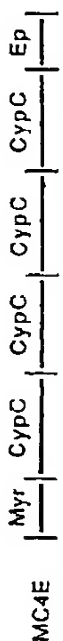
NA

+/-



>30 uM

+



>30 uM

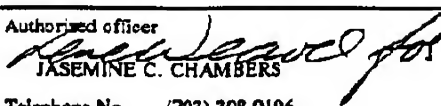
+++

Figure 20B/21

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US95/10591

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER																				
IPC(6) : C07K 14/00; C07H 21/00; C12N 5/00, 15/00 US CL : 530/350; 536/23.1; 435/172.3, 240.2, 320.1; 800/2 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC																				
B. FIELDS SEARCHED																				
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 530/350; 536/23.1; 435/172.3, 240.2, 320.1; 800/2																				
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched NONE																				
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) APS, DIALOG search terms: cre, lox P, transgenic, chimeric, ligand, recombinant, eliminate, inventor's name																				
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT																				
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.																		
Y	US, A, 4,959,317 (SAUER) 25 September 1990, see the entire document.	1-15																		
Y, P	Molecular and Cellular Biology, Volume 15, No. 3, issued March 1995, Qi et al., "The Ligand-Binding Domains of the Thyroid Hormone/Retinoid Receptor Gene Subfamily Function In Vivo To Mediate Heterodimerization, Gene Silencing, and Transactivation", pages 1817-1825, see the entire document.	1-15																		
Y	J. Mol. Biol., Volume 209, issued 1989, Carey et al., "An Amino-terminal Fragment of GAL4 Binds DNA as a Dimer", pages 423-432, see the entire document.	1-15																		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.																				
<table border="0"> <tr> <td>* Special categories of cited documents:</td> <td>"T"</td> <td>later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</td> </tr> <tr> <td>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be part of particular relevance</td> <td>"X"</td> <td>document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</td> </tr> <tr> <td>"E" earlier document published on or after the international filing date</td> <td>"Y"</td> <td>document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</td> </tr> <tr> <td>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</td> <td>"G"</td> <td>document member of the same patent family</td> </tr> <tr> <td>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</td> <td></td> <td></td> </tr> </table>			* Special categories of cited documents:	"T"	later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention	"A" document defining the general state of the art which is not considered to be part of particular relevance	"X"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	"E" earlier document published on or after the international filing date	"Y"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art	"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"G"	document member of the same patent family	"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means			"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
* Special categories of cited documents:	"T"	later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention																		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be part of particular relevance	"X"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone																		
"E" earlier document published on or after the international filing date	"Y"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art																		
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"G"	document member of the same patent family																		
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means																				
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed																				
Date of the actual completion of the international search 07 NOVEMBER 1995		Date of mailing of the international search report 06 DEC 1995																		
Name and mailing address of the ISA/IIS Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703) 305-2330		Authorized officer  JASEMINE C. CHAMBERS Telephone No. (703) 308-0196																		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US95/10591

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Cell, Volume 54, issued 15 July 1988, Webster et al., "The Hormone-Binding Domains of the Estrogen and Glucocorticoid Receptors Contain an Inducible Transcription Activation Function", pages 199-207, see the entire document.	1-15
Y	Science, Volume 262, issued 12 November 1993, Spencer et al., "Controlling Signal Transduction with Synthetic Ligands", pages 1019-1024, see the entire document.	1-15
Y	Science, Volume 255, issued 03 January 1992, Letourneur et al., "Activation of T Cells by a Tyrosine Kinase Activation Domain in the Cytoplasmic Tail of CD3 ", pages 79-82, see the entire document.	1-15
Y	Science, Volume 265, issued 01 July 1994, Gu et al., "Deletion of a DNA Polymerase β Gene Segment in T Cells Using Cell Type-Specific Gene Targeting", pages 103-106, see the entire document.	1-15
Y	Proc. Natl. Acad. Sci., Volume 89, issued August 1992, Orban et al., "Tissue- and site-specific DNA recombination in transgenic mice", pages 6861-6865, see the entire document.	1-15
Y	Proc. Natl. Acad. Sci., Volume 89, issued July 1992, Lakso et al., "Targeted oncogene activation by site-specific recombination in transgenic mice", pages 6232-6236, see the entire document.	1-15

